

Série A N° 1374  
N° d'ordre 2239

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTE DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

**Charles PONTILLON**

---

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DES LI-  
PIDES DU *Sterigmatocystis nigra*.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

**28 JANV 1933**

Soutenues le

**1932, devant la Commission d'examen**

MM. MOLLIARD .... *Président*

LAUGIER .... ) *Examineurs.*

LANQUINE .... )

---

PARIS

LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT

4, RUE DANTE, 4

---

1932



# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

**Charles PONTILLON**

---

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DES LI-  
PIDES DU *Sterigmatocystis nigra*.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **1932, devant la Commission d'examen**

MM. MOLLIARD .... *Président*  
LAUGIER .... } *Examineurs.*  
LANQUINE .... }

---

PARIS

LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT

4, RUE DANTE, 4

---

1932

# Faculté des Sciences de l'Université de Paris

## MM.

Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyen honoraire. M. MOLLIARD.

### Professeurs honoraires

H. LE CHATELIER.  
H. LEBESGUE.  
A. FERNBACH.  
A. LEDUC.  
Emile PICARD.  
Rémy PERRIER.

E. GOURSAT.... Analyse supérieure et algèbre supérieure.  
P. JANET. .... Electrotechnique générale.  
F. WALLERANT. .... Minéralogie.  
P. PAINLEVÉ. .... Mécanique analytique et mécanique céleste.  
M. CAULLERY. .... Zoologie (Évolution des êtres organisés).  
Emile BOREL.... Calcul des probabilités et Physique mathém.  
H. ABRAHAM. .... Physique.  
M. MOLLIARD. .... Physiologie végétale.  
E. CARTAN. .... Géométrie supérieure.  
Gabriel BERTRAND. .... Chimie biologique.  
Jean PERRIN. .... Chimie physique.  
L. LAPICQUE. .... Physiologie générale.  
M<sup>me</sup> P. CURIE... Physique générale et radioactivité.  
G. URBAIN. .... Chimie générale.  
L. MARCHIS. .... Aviation.  
E. VESSIOT. .... Théorie des fonctions et théorie des transformations.

### Professeurs

A. COTTON. .... Physique générale.  
J. DRACH. .... Application de l'analyse à la géométrie.  
Charles FABRY. .... Physique.  
R. LESPIEAU. .... Théories chimiques.  
P. PORTIER. .... Physiologie comparée.  
Charles PÉREZ. .... Zoologie.  
É. BLAISE. .... Chimie organique.  
P.-A. DANGEARD. .... Botanique.  
Léon BERTRAND. .... Géologie structurale et géologie appliquée.  
E. RABAUD. .... Biologie expérimentale.  
G. JULIA. .... Calcul différentiel et Calcul intégral.  
Paul MONTEL. .... Mécanique rationnelle.  
V. AUGER. .... Chimie appliquée.  
P. WINTREBERT. .... Anatomie et histologie comparées.  
O. DUBOSQ. .... Biologie maritime.  
Eugène BLOCH. .... Physique théorique et physique céleste.  
N. .... Étude des combustibles.  
L. LUTAUD. .... Géographie physique et géologie dynamique  
Henri VILLAT. .... Mécanique des fluides et applications.  
Ch. JACOB. .... Géologie.  
P. PASCAL. .... Chimie minérale.  
E. ESCLANGON. .... Astronomie.  
H. BÉNARD. .... Mécanique expérimentale des fluides.  
C. MAUGUIN. .... Minéralogie.  
L. BLARINGHEM. .... Botanique.  
A. GUILLIERMOND. .... Botanique (P.C.N.).  
A. DENJOY. .... Mathématiques générales.  
A. DUFOUR. .... Physique (P. C. N.).  
H. BÉGHIN. .... Mécanique physique et expérimentale.

E. PÉCHARD ... Chimie (Enseign. P.C.N.)  
A. GUILLET ... Physique.  
M. GUICHARD. ... Chimie minérale.  
A. MICHEL-LÉVY. ... Pétrographie.  
A. DEREIMS..... Géologie.  
H. MOUTON. .... Chimie physique.  
L. DUNOYER .... Optique appliquée.  
M. JAVILLIER. ... Chimie biologique.  
ROBERT-LÉVY. ... Zoologie.  
A. DEBIERNE... Radioactivité.  
E. DARMOIS.... Physique.  
G. BRUHAT .... Physique.  
F. PICARD ..... Zoologie (Évolution des êtres organisés).  
L. JOLEAUD..... Paléontologie.  
M. FRÉCHET. .. Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques.

M<sup>me</sup> RAMART-LUCAS Chimie organique.  
FOCH..... Mécanique expérimentale des fluides.  
PAUTHENIER..... Physique (P.C.N.).  
VILLEY ..... Mécanique physique et expérimentale.  
De BROGLIE.... Théories physiques.  
LABROUSTE. .... Physique du Globe.  
FREUNDLER .... Chimie (P.C.N.).  
PRENANT ..... Zoologie.  
P. JOB..... Chimie générale.  
CHRÉTIEN. .... Optique appliquée.  
BOHN ..... Zoologie (P. C. N.).  
COMBES ..... Sciences natur. (P.C.N.).  
GARNIER ..... Mécanique rationnelle.  
PÈRES ..... Mécanique des fluides.

Secrétaire ..... A. PACAUD.  
Secrétaire honoraire... D. TOMBECK.



**CONTRIBUTION  
A L'ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE  
DES LIPIDES DU  
*STERIGMATOCYSTIS NIGRA***

---

*(Avec 13 figures dans le texte)*

---



# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DES LIPIDES DU *STERIGMATOCYSTIS NIGRA*

---

## I. — INTRODUCTION.

L'accord ne s'étant pas encore fait sur la définition du terme lipide, il est nécessaire, avant tout exposé, d'indiquer dans quel sens nous l'entendons et au besoin de justifier notre manière de voir. Nous passerons ensuite rapidement en revue les principaux travaux effectués sur les substances lipidiques des Champignons et nous arriverons ainsi naturellement à exposer l'objet de ce mémoire et son plan général.

Le terme lipide a été créé pour remplacer celui de lipoïde introduit dans la terminologie par OVERTON pour désigner les substances grasses et les substances voisines solubles dans l'éther.

Il a été une première fois défini, à la 4<sup>e</sup> Conférence de l'Union Internationale de Chimie pure et appliquée tenue à Cambridge en 1923 par la commission de réforme de la nomenclature de Chimie biologique de la façon suivante (219) (1) :

« Le terme lipide désigne le groupe de substances qui comprend les matières grasses et les esters (éthers-sels) possédant des propriétés analogues (lécithine, phosphatine, etc. » (2). Cette définition très imprécise donna lieu à de nombreuses critiques et à des interprétations variées.

(1) Les chiffres gras entre parenthèses renvoient à l'index bibliographique placé à la fin du mémoire.

(2) Parmi les décisions prises au Congrès de Cambridge figure la suivante, à laquelle nous nous conformerons : « Le nom d'un principe immédiat dont la composition chimique est connue doit être formé d'après les règles de la nomenclature de Chimie organique ». Cependant pour les lecteurs peu familiarisés avec la nouvelle terminologie chimique, nous indiquerons les noms vulgaires des substances dont nous parlerons, chaque fois qu'il sera nécessaire.

A la 9<sup>e</sup> Conférence internationale, tenue à La Haye, en juillet 1928, la Commission de réforme de la nomenclature de Chimie biologique propose de diviser les lipides, tels qu'elle les a précédemment définis, en lipides ternaires ne contenant que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, et en lipides complexes renfermant en outre du phosphore ou du phosphore et de l'azote. Les lipides ternaires se diviseraient en : « Glycérides, lipides dont l'alcool est le glycérol ; cérides, lipides formés par l'union d'alcools supérieurs monovalents et d'acides gras de poids moléculaire en général élevé ; stérides, lipides dans lesquels l'alcool est un stérol ; étholides, lipides formés par l'union de plusieurs molécules d'acides-alcools dans lesquels la fonction acide d'une molécule éthérifie la fonction alcool d'une autre molécule ». Les lipides complexes comprendraient les phospholipides ou lipides renfermant du phosphore sous forme de reste phosphorique et les phosphoaminolipides renfermant du phosphore sous forme de reste phosphorique et de l'azote sous forme de reste aminé. Ce dernier groupe serait formé par les « glycérophosphoaminolipides dans lesquels l'alcool est le glycérol (céphalines, lécithines) » et les « sphingophosphatides dans lesquels l'alcool est la sphingosine (sphingomyéline) ». (221).

En 1929, V. VESELY et M. JAKES (321) critiquent ces définitions et proposent en particulier de définir ainsi les lipides : « le terme lipide désigne les esters (éthers-sels) naturels, non volatils avec la vapeur d'eau et ne possédant dans leur molécule aucun noyau aromatique ». Ils excluent ainsi des lipides des substances à caractère non lipoïdique, telles que les esters contenus dans les essences, car ces substances sont volatiles avec la vapeur d'eau et d'autre part les esters aromatiques appartenant aux groupes des résines, des tannins, des alcaloïdes, etc. Cependant cette définition ne nous paraît pas exempte de reproches : en effet, l'expression noyau aromatique n'est pas heureuse, car elle peut prêter à confusion pour des biologistes qui, peu avertis de la classification des composés cycliques, les confondent souvent sous le terme général de composés aromatiques ; d'autre part, une bonne définition doit être faite de caractères positifs ; enfin pourquoi exclure des lipides les graisses de synthèse en posant comme principe qu'ils doivent être des esters naturels ?

Nous proposons de considérer comme lipides, et c'est dans cette acception que nous emploierons ce terme par la suite, toutes les substances caractérisées chimiquement par une ou plusieurs fonctions esters facilement saponifiables et reliant des radicaux aliphatiques ou alicycliques et caractérisées physiquement par leur solubilité dans les solvants organiques usuels, en particulier l'éther, et par leur insolubilité dans l'eau. En introduisant dans notre définition le caractère facilement saponifiable nous écartons les résènes (résines non hydrolysables de TSCHIRCH (316)), les tannins condensés et même les tannins hydrolysables (Cf. FREUDENBERG (88)). Les tannins se trouvent d'ailleurs éliminés par le fait de leur solubilité dans l'eau et, d'autre part, par la présence de radicaux aromatiques dans les produits d'hydrolyse, pour les tannins hydrolysables. Les résines hydrolysables sont également rejetées par le fait que leurs produits d'hydrolyse comprennent des radicaux aromatiques. Enfin la considération des caractères de solubilité qui n'est au total qu'un rappel de la définition d'OVERTON, permet d'écarter des substances à caractères non lipoidiques comme les phytines et divers esters dont les restes acides sont des radicaux minéraux et les restes basiques correspondent à des hydrocarbures de faible poids moléculaire dans lesquels la substitution à des atomes d'hydrogène de groupements amino, carboxyle, oxhydre, ou de radicaux minéraux a masqué en totalité ou en partie le caractère typiquement organique (Cf. STAUDINGER (293)). En résumé, pour nous, **les lipides sont des substances à caractère typiquement organique possédant dans leur molécule une ou plusieurs fonctions ester facilement hydrolysables en radicaux aliphatiques ou alicycliques.**

Les lipides ainsi définis peuvent se diviser, comme l'a proposé la Commission de réforme de la nomenclature de Chimie biologique, en lipides ternaires : glycérides, cérides, stérides, étholides, et en lipides complexes : phospholipides et phosphoaminolipides. Cependant nous modifierons en les précisant, les définitions proposées pour certains de ces groupes.

Les glycérides sont des esters du propanetriol ou glycérine (1)

(1) Le terme glycérol a été proposé (37) pour désigner la glycérine conformément à la décision suivante de la 5<sup>e</sup> Conférence de l'Union internationale de Chimie pure et appliquée (Copenhague, 1924) (220) : « Dans le cas où la

avec des acides gras aliphatiques et alicycliques. Ils comprennent les mono-, bi- et tri-glycérides simples ou mixtes qui constituent la partie la plus importante des graisses naturelles.

Les cérides sont des esters d'alcools aliphatiques monovalents. Ce sont les constituants principaux des cires.

Les stérides sont des esters d'alcools alicycliques généralement monovalents, les stérols.

Les étholides sont des esters d'acides gras hydroxylés dans lesquels un groupement acide d'une molécule estérifie un groupement alcoolique d'une autre molécule semblable ou différente. Ils forment les constituants principaux des cires de Conifères.

Les phospholipides sont des esters phosphoriques, qui d'après notre définition générale doivent être solubles dans l'éther et insolubles dans l'eau.

Les phosphoaminolipides comprennent les glycérophosphoaminolipides tels que les lécithides et les céphalides qui sont des esters phosphoriques du propanetriol dans lesquels l'acide phosphorique est en outre lié à une base organique et le propanetriol à des radicaux gras, et les sphingophospholipides tels que la sphingomyéline dans lesquels le propanetriol est remplacé par la sphingosine, alcool aminé de formule  $C_{17}H_{35}NO_2$ .

Dans les corps gras naturels, graisses (1) ou huiles d'extraction ou d'expression, ces différents groupes de lipides se trouvent généralement représentés dans des proportions variables et souvent plus ou moins mélangés d'acides gras libres, d'alcools aliphatiques ou alicycliques, d'hydrocarbures, de sphingogalactosides (cérébrosides), de résines, etc. L'existence de traces de ces substances non lipidiques présente un intérêt pratique considérable pour la détermination de l'origine des graisses naturelles (Cf. HALPHEN (123), CHERCHEFFSKY (44).

constitution d'un principe immédiat est trop complexe ou imparfaitement connue, le nom qui sert à le désigner doit, tout au moins, comporter une désignation en accord avec la fonction chimique principale ». Ce terme nous semble à rejeter, car la constitution de la glycérine est simple et bien connue, et dans ces conditions c'est le terme propanetriol qui doit être employé. Cf. Note (2) p. 3

(1) Dans la suite du mémoire, nous entendons par graisses ou substances grasses des mélanges complexes à caractère éminemment lipoidique contenant des lipides plus ou moins souillés de substances étrangères, c'est-à-dire ce que les Allemands traduisent par « Rohfett ».

La connaissance de substances grasses chez les Champignons est assez ancienne : dès la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle, LEMERY, l'humble pharmacien de la rue Galande, un des précurseurs de la chimie, enseignait, aux auditeurs venus de tous pays à ses cours, la présence d'huile chez ces végétaux. Les premières études chimiques effectuées ont eu surtout pour but la détermination qualitative des principes immédiats existant chez les Champignons, puis, par la suite, leur détermination quantitative. Grâce aux progrès de la chimie organique, les déterminations qualitatives ont été précisées et des recherches ont été effectuées sur les constituants des graisses de Champignons qui, d'une façon générale, appartiennent à des espèces officinales, comestibles, toxiques ou industrielles.

Au lieu de suivre l'ordre chronologique qui a sa raison d'être dans l'exposé d'un sujet purement physiologique car il montre l'évolution des idées et les états d'approximation successifs, nous suivrons dans cette courte monographie sur l'étude chimique des graisses chez les Champignons l'ordre résultant de la classification botanique, tel que nous l'avons trouvé dans le travail de GÄUMAN (94) : toutefois quand plusieurs travaux auront pour objet la même espèce, ceux-ci seront analysés dans l'ordre chronologique.

Pour l'établissement de cette monographie, nous avons été aidé par les revues d'ensemble, assez incomplètes d'ailleurs dues à ZOPF (354), KÖNIG (161), HUSEMANN et HILGER (139), ZELLNER (340), BRAHM (34), FUCHS (91), FODOR (85).

MYXOMYCÈTES. — Des graisses ont été décelées dès 1811 par BRACONNOT (31) dans le plasmode de *Fuligo septica* (1) et leur étude a été poursuivie de 1880 à 1881 par REINKE et RODEWALD (254) (255) (256), qui ont trouvé : lécithine 0,20%, stérols 1,40% constitués d'un stérol (paracholestérol) P. F. 134-134<sup>o</sup>5,  $\alpha_D = -28^\circ$  et de cholestérol vrai, résines terpéniques 1%, acides gras libres ou combinés au propanetriol, savons calciques 5,33%. LOEW (187) décèle également de la lécithine dans le sporange de ce Myxomycète. GÉRARD (99), en 1892, montre l'identité du

(1) Sauf lorsque l'homologation de l'espèce étudiée est pratiquement impossible, nous emploierons toujours la désignation conforme à la nomenclature actuellement admise.

paracholestérol de REINKE avec l'ergostérol. En 1923, LEPESCHKIN (182) reprend l'étude chimique du *Fuligo septica* et indique : lipoprotides 4.8%, graisses neutres 6.8%, stérols 3.2%, phospholipides 1.3%. De *Fuligo varians*, WALTER (323), en 1921, extrait par l'éther 5.36 à 8.13% de graisses contenant 21% de stérols, de la lécithine, les acides propionique, butyrique, caproïque, caprique, oléique, palmitique, stéarique, une substance terpénique et une résine molle. Chez *Lycogala epidendron*, KIESEL (157) trouve 37.51% d'extrait éthéré constitué par une huile présentant un indice d'acide de 14.9, un indice de saponification de 193.2, un indice d'iode de 102.5, et contenant outre de la lécithine et une substance lipophile inconnue, 7.74% de propanetriol, 4.42% d'insaponifiables formés surtout de stérols, 76.02% d'acides gras non saturés et 10.54% d'acides gras saturés. Le même auteur (156) extrait du plasmode de *Reticularia Lycoperdon* 23.10% d'huile contenant 78.73% d'acides gras non saturés, 8.54% d'acides gras saturés, 2.53% de stérols, 20.21% de lécithine.

ARCHIMYCÈTES. — Nous n'avons trouvé aucune donnée se rapportant à ces espèces de cette classe.

PHYCOMYCÈTES. — Nous ne connaissons pas de travaux ayant trait à des espèces de l'ordre des Chytridiales et de l'ordre des Oomycétales, par contre quelques renseignements se rapportent à des espèces de Zygomycétales. Chez *Mucor mucedo*, SIEBER (286), indique la présence de phosphatides et GÉRARD (101) décèle un stérol dont il n'a pas déterminé les constantes. MARSCHALL (196) trouve dans le mycélium de *Rhizopus nigricans* cultivé sur bouillon peptone avec 2% de glucose et 1% d'acide tartrique, 7% de graisses. Goupil (109) (110) étudiant l'*Amylomyces* (*Mucor*) *Rouxii* y trouve 24.8 % de graisses au moment du maximum de développement et indique une teneur en phosphore lipidique variant de 0.66 à 1.27%.

ASCOMYCÈTES. — Dans la sous-classe des Protascinées les espèces de l'ordre des Endomycétales et dans cet ordre de la famille des Saccharomycetacées ont été souvent étudiées. Chez *Schizosaccharomyces mellalei*, HEIDUSCHKA et LINDNER (128) indiquent une teneur en ergostérol de 0.54% par rapport à la substance sèche. PAYEN (232), dès 1846, étudiant la Levure de bière y trouve 2.10% de graisses, mais C. VON NÄGELI et

LOEW (224) indiquent, en 1878, une teneur de 5% environ. D'après ces derniers, la graisse est constituée surtout d'oléine avec de la palmitine, de la stéarine et un stérol, mais ne contient pas de lécithine ; il existe en outre chez la levure un corps amorphe floconneux extractible par l'alcool chaud, absorbant les graisses, donnant par chauffage une odeur de corne, par décomposition alcaline un sulfure et que ces auteurs rattachent aux protides. O. LOEW (186), en 1879, confirme l'absence de lécithine, alors que peu après, la même année, HOPPE-SEYLER démontre son existence (138). GUICHARD (116), en 1894, indique une teneur en graisse de 1.4%. GÉRARD (101) (102) les années suivantes, trouve un stérol P. F. 135-136°,  $\alpha_D = -105^\circ$  qu'il assimile à l'ergostérol. GÉRARD et DAREXY (103), en 1897, étudient la graisse semi-liquide extraite de la levure, montrent sa réaction acide et constatent l'existence d'acides palmitique et stéarique ainsi que la présence de petite quantité d'acide butyrique. SEDLMAYER (283) décrit, en 1903, la lécithine de la levure comme un dipalmitoglycérophosphate de choline. KUTSCHER et LOHMANN (167) la même année décèlent la choline parmi les produits d'autodigestion de la levure. HINSBERG et ROSS (135) (136) étudient une levure de brasserie et trouvent outre 2 à 2.8% de graisse, un stérol P. F. 159° et parfois un autre P. F. 145-148° et enfin une huile essentielle incolore, entraînable à la vapeur d'eau et possédant une odeur de jacinthe. Dans la graisse, ils mettent en évidence un acide pentadécanoïque, un acide dodécénoïque et un acide octodécénoïque. HENNEBERG (131), en 1904, indique une teneur en graisse égale à celle donnée par PAYEN. DUBAQUIÉ (70), en 1909, montre que la teneur en graisse de la levure est au maximum de 4.7% en milieu anaérobie et de 5.8% en milieu aérobie.

NEVILLE (225), en 1913, confirme l'existence de l'acide pentadécanoïque, car il fut incapable de le séparer en acide palmitique et en un autre acide ; il isole un acide fondant à 77° qu'il regarde comme de l'acide arachidique, et par l'étude des produits d'oxydation des acides non saturés, il déduit la présence d'un isomère de l'acide linoléique et des membres en  $C_{16}$  et  $C_{18}$  (acides hexadécénoïque et octodécénoïque) de la série oléique ; il ne retrouve pas l'acide dodécénoïque indiqué par HINSBERG et ROSS ; il indique enfin l'existence d'un stérol P. F. 148°-149°. En 1920

I. SMEDLEY-MACLEAN et E. M. THOMAS (290) indiquent que la graisse de levure contient les acides laurique, palmitique, arachidique, oléique et linoléique, mais par contre ne contient pas les acides pentadécanoïque et dodécénoïque qui ne sont que des mélanges des précédents, et qu'elle contient en outre 20% d'un stérol probablement identique à l'ergostérol, possédant comme lui trois doubles liaisons et se trouvant en partie à l'état libre, en partie à l'état de stéride. J. BAYER (8), en 1921, montre l'identité de l'ergostérol de la levure avec celui de l'ergot de Seigle. WINDAUS et GROSSKOPP (332) confirment cette identité. C. G. DAUBNEY et I. SMEDLEY-MACLEAN (61) signalent, en 1927, que les phosphoaminolipides de la levure sont constitués de léci-thine et de céphaline, et d'autre part (62), en considérant les valeurs de l'indice d'iode de l'insaponifiable arrivent à la conclusion qu'il est constitué pour partie d'un stérol et pour partie d'une substance saturée. I. SMEDLEY-MACLEAN (288) découvre, en 1928, un stérol dextrogyre, le zymostérol, qui a été étudié l'année suivante par TANRET et PENAU (301) et par REINDEL et WEICHMANN (253). Entre temps, en 1929, HEIDUSCHKA et LINDNER (128) indiquent les teneurs suivantes en ergostérol rapportées à la substance sèche : levure pressée 0.70 à 1.17%, levure de brasserie 0.61%. Enfin par suite des propriétés thérapeutiques de l'ergostérol, de nombreuses études ont été effectuées sur les stérols de la levure ; parmi elles, celles de REINDEL et de ses collaborateurs (249), (250), (251) (252) effectuées de 1927 à 1929 et celle de WIELAND et ASANO (327) méritent d'être signalées. Pour une levure de vin de Porto, HEIDUSCHKA et LINDNER (128), indiquent une teneur en ergostérol de 0.28% par rapport à la substance sèche. Chez *Torula pulcheria*, les mêmes auteurs indiquent une teneur de 0.20%.

Dans la sous-classe des *E u a s c o m y c è t e s*, des espèces appartenant à la famille des *Aspergillacées* et à la famille des *Elaphomycétacées* ont été étudiées pour l'ordre des *P l e c t a s c a l e s*.

SIEBER (286) signale de la lécithine chez un *Aspergillus*, dès 1881. DUBAQUIÉ (70), en 1909, indique pour *Aspergillus glaucus* une teneur en graisse de 3.9% au maximum. Chez *A. fumigatus*, RAVENNA et PIGHINI (246) signalent l'existence d'une sub-

stance amorphe précipitant par refroidissement de l'extrait alcoolique. Chez *A. orizae*, Aso (4) indique que les conidies contiennent 0.377 % de graisses, alors que SUMI (287) indique le chiffre de 0.88%. Ce dernier trouve dans la graisse un stérol P. F. 159-160° et de la lécithine. HEIDUSCHKA et LINDNER (128) donnent pour le mycélium de ce Champignon la teneur en ergostérol de 0.46%. MARSCHALL (196) trouve, en 1897, dans le mycélium de *Sterigmatocystis nigra* cultivé sur bouillon peptone avec 2% de glucose et 1% d'acide tartrique, 4.7% de graisse, et DUBAQUIÉ (70), en 1909, indique pour des cultures sur liquide de RAULIN une teneur maxima de 12.6%. BELIN (10), en 1926, signale que l'inanition prolongée du mycélium fait tomber le taux des acides gras totaux à une valeur voisine de 1.37 % et avec E.-F. TERROINE (304) montre que cette valeur correspond à celle des acides gras de la lécithine contenue dans le mycélium. E.-F. TERROINE, BONNET, KOPP, et VÉCHOT (309) indiquent que les teneurs en stérols varient de 0.17 à 0.65% suivant la nature de l'aliment carboné. E.-F. TERROINE et BONNET (305) puis P. R. BOHN (19) signalent que suivant la concentration et la nature du glucose offert, le taux des acides gras totaux varie de 3.1 à 13.32% et celui des insaponifiables de 0.31 à 1.16%. HÉE (127) signale que les cultures sur milieu de CZAPEK contiennent au bout de 66 heures, 0.73 mg. de phosphore lipidique par gramme. LABORDE (168), en 1897, signale que la teneur en graisse de l'*Eurotiopsis Gayoni* peut atteindre 29.8%, valeur que A. PERRIER (235) porte à 34.05% mais que DUBAQUIÉ indique n'être que 17% au maximum (70). En 1880, C. VON NÄGELI et LOEW (222) indiquent qu'un Pénicille peut contenir de 6.67 à 18.10 % d'acides gras suivant la nature de l'aliment et, en 1882, C. VON NÄGELI (223) indique une teneur moyenne de 18.5% de graisses. L'année d'avant, SIEBER (286), avait montré la présence de lécithine chez un Pénicille. En 1884, DE BARY (63) indique que, dans ce genre, la teneur en graisse peut atteindre 50% du poids de la matière sèche. GÉRARD (99), en 1892, trouve chez le *Penicillium glaucum* un stérol P. F. 135° et  $\alpha_D = -114^\circ$ , et indique également la présence de résines. E. CRAMER (55) indique, en 1894, que dans la même espèce les spores contiennent 7.3% de graisses. MARSCHALL (196), en 1897, trouve dans le mycélium, cultivé sur bouillon peptone avec 2%

de glucose et 1% d'acide tartrique, 4.1% de graisses. DUBAQUIÉ (70), en 1909, indique que, suivant les conditions de culture, la teneur en graisse est au maximum de 4.5%. SULLIVAN (295) étudiant, en 1913, la graisse de ce Champignon y trouve de l'acide oléique, de l'acide palmitique, un acide indéterminé P. F. 54°, un autre acide qui semble être l'acide élaïdique, de la choline, un stérol et des cérébrosides. REMOND et LASALLE (257), en 1925, trouvent à l'analyse d'un morceau de pain de 10 g. sur lequel a été ensemencé du *Penicillium glaucum*, au bout de 22 jours : acides gras totaux 0.083 contre 0.020 pour le témoin, insaponifiables totaux 0.057 contre 0.014, stérols 0.044 contre 0.011, phosphore lipidique 0.007 contre 0.0. Pour les stérols, HEIDUSCHKA et LINDNER (128), en 1929, indiquent la proportion de 0.75% rapportée à la substance sèche. H. H. BARBER (7) la même année reprend l'étude chimique de la graisse d'un *Penicillium* et trouve qu'elle est formée d'acides palmitique, stéarique, oléique,  $\alpha$  et  $\beta$  linoléique, libres ou combinés à l'état de glycérides ou de stérides. Dans une série de travaux, MANCEAU et ses élèves (36) (192) étudient les variations des stérols en fonction de la composition du milieu de culture et indiquent des teneurs variant de 0,45 à 0,638%. Enfin, chez *Penicillium puberulum*, ALSBERG et BLACK (3) indiquent l'existence d'un acide voisin des acides des Lichens.

Dans la famille des Elaphomycétacées, quelques données d'ailleurs anciennes se rapportent à la constitution de *Elaphomyces granulatus*. H. BILTZ (15), en 1825, trouve 0.333% de graisses dans le péridium et signale la présence de résine dans les spores ; LUDWIG (190), en 1869, indique que les spores contiennent 0.233% d'une graisse à odeur faible et agréable.

Pour les espèces appartenant aux ordres des Périssporiales et des Myriangiales, nous n'avons trouvé aucune indication chimique sur les graisses.

Pour l'ordre des Hypocréales, le sous-ordre des Scoléocosporées avec *Claviceps purpurea* a donné lieu à de nombreuses analyses. VAUQUELIN (320), dès 1816, signale des matières grasses dans le sclérole. PETTENKOFER (236), l'année suivante y retrouve l'huile décelée par VAUQUELIN et constate que l'alcool extrait 19% d'une substance grasseuse, verdâtre, mélangée de

d-hexanehexol 1122 (1) (mannite). WINCKLER (329), en 1827, indique pour le sclérote une teneur en graisse de 23.3%. WIGGERS (328) en 1832, extrait par l'éther de l'ergot de Seigle 35% d'huile incolore, peu fluide, de goût gras et doux, mais d'odeur rance, de poids spécifique 0.922 à 8° C et extrait par l'alcool 1% d'une graisse facilement cristallisable et 0.75% d'une substance cireuse qu'il appelle cérine. En 1863, LUDWIG (189) extrait par l'éther froid de 25 à 27.8% d'une huile peu fluide, jaune pâle, d'un goût fade et à odeur rance, ne contenant pas d'acides gras libres et ne possédant pas de propriétés siccatives. En 1869, le même auteur (191) isole de 3.000 gr. d'ergot de Seigle frais 0.250 g. d'une substance cristallisée présentant la réaction de SCHIFF et dont une portion fond à 141° et l'autre à 160° C. HERMANN (132) la même année aurait signalé la présence d'acides acétique, butyrique, palmitique et élaïdique dans l'ergot. L'année suivante, J. B. GANSER (92), extrayant à l'éther dans un appareil à déplacement, trouve 30% d'huile semi-fluide, brun jaunâtre, ne contenant pas d'acides libres et où se trouvent une substance résineuse à laquelle l'huile doit sa couleur et 0.12% de stérols, soit rapporté au poids du sclérote 0.036%. FICINIS (79), en 1873, indique une teneur de 30% et pour l'huile les caractères suivants : épaisse, odeur faible rappelant celle du beurre de cacao à l'état frais, devenant rapidement rance. C. TANRET (299), en 1889, montre que le stérol de l'ergot de Seigle est différent des stérols connus et il l'appelle ergostérine (ergostérol); il en indique les caractères qui seront précisés par la suite. D'après FLUCKIGER (84), le poids des graisses de l'ergot peut atteindre 50% du poids de la substance sèche, cependant on obtient en moyenne 13% de graisse par expression et 30% par épuisement à l'éther. En 1894, ZEEH (334) extrait de l'ergot frais 23% de graisse visqueuse, brune, contenant les acides érucique, oléique, myristique, butyrique, du propanetriol, de la choline, un stérol. A. MJOEN (206), en 1896, par extraction à l'éther de pétrole, obtient une huile peu fluide, de poids spécifique 0.9254 à 15° C, présentant un indice d'acide de 4.95, un indice de saponification de 178.3, un indice d'iode de 71.08, contenant des acides

(1) La constitution de la mannite étant connue, le terme de mannitol proposé pour la désigner n'a pas sa raison d'être. Cf. note 2 page 3.

gras de poids moléculaire moyen égal à 306.8, du propanetriol, des stérols. En 1905, OTTOLENGHI (231), vérifie et précise les réactions de l'ergostérol. ZELLNER (339), en 1906, indique que la graisse de l'ergot de Seigle ne s'hydrolyse pas avec le temps. En 1908, C. TANRET (300) sépare la fongistérine (fongistérol)  $C_{25}H_{40}O$ ,  $H_2O$ , P. F.  $144^{\circ}$ ,  $\alpha_D = -22^{\circ}4$ , de l'ergostérol  $C_{27}H_{42}O$ ,  $H_2O$ , P. F.  $165^{\circ}$ ,  $\alpha_D = -126^{\circ}$ , confirmant un résultat de LUDWIG. L'année suivante, A. RATJHE (244), étudie l'huile brune, à odeur peu caractéristique et de goût âcre obtenue par épuisement à l'éther ; il en donne la composition :

|                           |      |
|---------------------------|------|
| acide oléique .....       | 68   |
| acide oxyoléique .....    | 22   |
| acide palmitique .....    | 5    |
| insaponifiables .....     | 0.35 |
| substances minérales..... | 0.2  |
| alcaloïdes.....           | 0.6  |
| glycérine.....            | 7.5  |

et les caractéristiques, parmi lesquelles nous relevons :

|                              |        |
|------------------------------|--------|
| densité .....                | 0.9250 |
| indice de réfraction.....    | 1.4685 |
| indice d'acide .....         | 11.8   |
| indice de saponification ... | 179.3  |
| indice d'iode .....          | 74.0   |

Dans l'ordre des Sphaeriales, *Dematium pullulans* contient d'après HEIDUSCHKA et LINDNER (128) de 0.29 à 0.30% d'ergostérol.

Nous n'avons trouvé aucune référence sur les substances grasses d'espèces appartenant aux ordres des Dothidéales, des Hystériales, des Hémisphaeriales, des Phacidiales.

Dans l'ordre des Pézizales, sous-ordre des Inoperculatées, des références se rapportent à la famille des Bulgariacées avec *Bulgaria inquinans* et à la famille des Helotiacées avec *Botrytis cinerea*.

Chez le premier, BRACONNOT (32), dès 1813, signale la présence d'adipocire, de gomme et d'huile colorée par un pigment virant au rouge en présence des alcalis, et, d'autre part, en 1912, BOUGAULT et CHARAUX (26) indiquent la présence de stérols.

Chez le second, DUBAQUIÉ (70) indique que la teneur en graisse varie suivant les conditions de culture et donne pour valeur maxima 5.4%.

Dans le même ordre des P é z i z a l e s, sous ordre des Operculatées, des renseignements existent sur la famille des Pézizacées avec une indication de présence de stérols chez *Peziza aurantia* due à BOUGAULT et CHARAUX (26) et sur la famille des Helvellacées. Chez *Helvella* (*Gyromitra*) *esculenta*, SCHRADER (274) signale l'existence d'une graisse cristallisée analogue au blanc de baleine (probablement un stérol) et d'une huile visqueuse brune ; KOHLRAUSCH (160) indique une teneur en graisse de 2.25%, celle-ci étant constituée par une huile fluide à odeur forte et agréable contenant un stérol. Chez *Morchella esculenta*, J. HOFMANN (137) signale 3.41% de graisses.

Quelques données anciennes se rapportent à la chimie d'une espèce appartenant à l'ordre des T u b é r a l e s, *Tuber cibarium* (*T. melanosporum* ?). BOUILLON-LAGRANGE (27), en 1804, y décèle de l'huile et de la résine. E. RIEGEL (258), en 1843, y trouve une huile brune à odeur non désagréable de pommes cuites, de goût piquant et rance, à réaction acide et dont se séparent des cristaux (probablement de stérol) ; mélangées à l'huile se trouvent des traces d'huile essentielle et une résine acide. J. LEFORT (173), en 1857, extrait par l'éther froid une matière butyreuse jaunâtre cristallisable en mamelons très petits, s'émulsionnant facilement avec l'eau ; il indique en outre que « la matière grasse n'est pas saponifiable », ce qui tendrait à montrer qu'elle est formée probablement d'acides gras libres. Enfin KOHLRAUSCH (160), en 1867, signale que la Truffe contient 2 à 3% d'huile fluide, à odeur agréable, rancissant facilement.

Pour terminer avec la classe des Ascomycètes, signalons que nous n'avons rien trouvé se rapportant à la chimie des graisses chez les espèces de l'ordre des L a b o u l b é n i a l e s.

**BASIDIOMYCÈTES.** — Les espèces de la sous-classe des *Protobasidiomycètes* appartenant à l'ordre des U r é d i n a l e s et à l'ordre des T r é m e l l a l e s n'ont pas été étudiées, à notre connaissance, au point de vue qui nous occupe ; par contre, quelques espèces, *Ustilago maydis*, *Tilletia tritici* et *Tilletia levis*, de l'ordre des U s t i l a g i n a l e s et une espèce *Auricularia auricula*

*Judae* (1), de l'ordre des *Auriculariales*, ont été étudiées au point de vue chimique par ZELLNER.

Chez *Ustilago maydis*, cet auteur (343) indique une teneur en graisse de 1.4% ; les caractères de la graisse extraite varient d'une année à l'autre et ceux de la graisse extraite du mycélium différent de ceux de la graisse provenant des spores ; la graisse contient de l'acide oléique, des acides gras concrets, des acides gras volatils, de la lécithine, des stérols, du propanetriol en quantité insuffisante pour saturer les acides, des résines.

De *Tilletia levis*, ZELLNER (346) extrait 1.5 % d'huile visqueuse brun verdâtre dont se séparent des cristaux ; elle présente les caractéristiques suivantes : indice d'acide 106.3, indice de saponification 182.0, insaponifiables 15.3% et contient des acides gras fluides, des acides gras concrets, un corps d'aspect cireux, un stérol, du propanetriol, de la résine, un corps inconnu soluble dans l'alcool. Chez *T. tritici*, les résultats sont identiques sauf : indice d'acide 104,6, indice de saponification 184.8, insaponifiables 18.1%.

*Auricularia auricula Judae* (350), séché à l'air donne par extraction à l'éther de pétrole, 1% d'huile brune dans laquelle se trouve un stérol.

Pour la sous-classe des *Autobasidiomycètes*, les données chimiques ne manquent pas, cependant nous n'avons rien trouvé se rapportant aux graisses d'espèces appartenant à l'ordre des *Tulasnellales*.

Pour l'ordre des *Dacryomycetales*, nous n'avons trouvé qu'une étude de FRÖSCHL et ZELLNER (87) se rapportant à l'espèce *Calocera flammea* désignée par ces auteurs sous le nom de *C. viscosa* ; ils y signalent l'existence de stérols, de lipochromes, d'acides oléique, palmitique, stéarique, de résines.

Dans l'ordre des *Cantharellales*, les familles des *Exobasidiacées*, des *Cantharellacées* et des *Hydnacées* ont été étudiées.

D'après ZELLNER (347), les galls sur *Rhododendron ferrugineum* dues à *Exobasidium Vaccinii*, renferment 1.71% de graisse

(1) Ce Champignon rapporté par ZELLNER au genre *Exidia* est un *Auricularia* typique, et, à moins d'une erreur grave de détermination de la part de l'auteur, c'est à ce genre que nous devons le rattacher.

2.68% de résine et 0% d'huile essentielle ; les indices de la graisse sont très voisins de ceux de l'huile de l'hôte.

Chez *Craterellus cornucopioides*, GORIS et MASCRÉ (108), signalent l'existence d'ergostérol et de fongistérol. Chez *Cantharellus cibarius*, BRACONNOT (30) signale l'existence d'huile et d'adipocire ; FRITSCH (90), en 1889, indique la présence de stérol et de lécithine ; HOFMANN (137), en 1901, extrait de la Girole 2.62% d'une huile brune épaisse contenant un stérol libre fondant à 158° C. de pouvoir rotatoire 124°2, très abondant ; HIESTAND (133), en 1906, ne trouve que très peu de phosphore lipidique ; ZELLNER (339), la même année, trouve dans des Giroles séchées à l'air 3.94 d'huile jaune foncé, assez épaisse, à odeur forte caractéristique, et sur du matériel vieux de 8 semaines, détermine les indices suivants : indice d'acide 102.9, indice de saponification 214.4.

Chez *Hydnum repandum*, BRACONNOT (30), trouve de l'huile et de l'adipocire ; ZELLNER (339), en 1906, extrait de ce Champignon séché à l'air 4.65% d'une huile jaune qui possède un indice d'acide de 126.7, un indice de saponification de 191.0 et dans laquelle précipite un corps cristallin du groupe de l'ergostérol ; GORIS et MASCRÉ (108), en 1911, indiquent la présence d'ergostérol et de fongistérol. Chez *Hydnum asparatum*, T. IKEGUCHI (141) indique l'existence d'un mycostérol,  $C_{30}H_{48}O_2$ , P. F. 159-160°,  $\alpha_D = 129^\circ 3$ , mais I. SMEDLEY MACLEAN et THOMAS (290) ne croient pas à l'individualité de ce stérol. En 1915, ZELLNER (349), extrait par l'éther de pétrole de *Hydnum (Calodon) ferrugineum* séché à l'air 5 à 5.5% d'une huile jaune brun foncé dont se sépare, par repos, un précipité cristallin et qui présente un indice d'acide de 104.28, un indice de saponification de 189.35 ; l'extrait contient 15.25% d'insaponifiables formés surtout par des stérols, contient en outre de la lécithine, peu d'acides gras fluides, des acides gras concrets de point de fusion moyen 65°, du propanetriol. Chez *Hydnum (Calodon) velutinum*, BRACONNOT (30) trouve de l'huile et de l'adipocire. Enfin *Hydnum (Sarcodon) imbricatum*, d'après ZELLNER (349), donne par l'éther de pétrole un extrait onctueux, de teinte foncée, contenant des graisses et des résines, présentant un indice d'acide de 106.51 et un indice de saponification de 170.07 ; la présence de lécithine et de stérols est également indiquée.

L'ordre des Polyporales contient quelques espèces qui ont été très étudiées.

Dans la famille des Clavariacées, *Clavaria flaccida* a été étudiée par GORIS et MASCRÉ (108) qui y ont trouvé de l'ergostérol et du fongistérol; *Clavaria flava*, séché à l'air pendant 8 semaines, contient, d'après ZELLNER (339), 3% d'huile jaune pâle, donnant par repos un abondant précipité de stérols, possédant un indice d'acide de 122.4 et un indice de saponification de 228.2.

Dans la famille des Méruliacées, *Merulius lacrymans* contient, selon GOEPPERT (107), 13.08% de graisses constituées en grande partie de glycérides.

Dans la famille des Polyporacées, *Polyporus confluent*, séché à l'air donne à ZELLNER (339), par l'éther de pétrole, 22.8% d'extrait constitué en grande partie par un corps rouge brun insaponifiable et présentant un indice d'acide de 46.06 et un indice de saponification de 76.17; un stérol y a été décelé. *Polyporus sulfureus* contient une huile décelée par TRIPIER (315); ZELLNER et ZIKMUNDA (353), traitant ce Champignon par l'éther de pétrole, y trouvent une substance cristalline inconnue, peu abondante, accompagnant une graisse présentant les caractéristiques: indice d'acide 92.0, indice de saponification 173.1, indice d'iode 58.4, insaponifiables % 25.16, et contenant un cérébroside, de l'ergostérol, du fongistérol, les acides stéarique, palmitique, dioxy-stéarique, de la lécithine. Chez *Polyporus (Melanopus) squamosus*, qu'il appelle *Boletus juglandis*, BRACONNOT (32), trouve de l'huile et de l'adipocire. *Lenzites sepiaria*, séché à l'air, donne, d'après ZELLNER (350), 2% d'huile jaune brun, riche en stérols. *Trametes suaveolens* fournit à cet auteur (341) 0.8% d'une graisse d'indice d'acide voisin de 30, d'indice de saponification de 173.6 en moyenne et dont se sépare un stérol. HARTMANN et ZELLNER (125) traitant par l'éther de pétrole *Polyporus pinicola (Ungulina marginata)* obtiennent un extrait contenant en grande quantité de l'ergostérol et du fongistérol, des acides résinologiques, des acides gras inférieurs (acétique, butyrique), du propanetriol, de la choline, mais ne contenant pas d'acides supérieurs des séries saturée et éthylénique. Chez *Polyporus (Ungulina) betulinus*, ZELLNER (348) trouve 3.5% d'huile semi-consistante brun jaunâtre présentant un indice d'acide de 96.7, un indice de saponification de 155.0, un

indice d'iode de 98,6, contenant 17,5% d'insaponifiables formés de stérols, cérébrosides, résines, et d'un corps gélatineux non azolé. *Polyporus (Ungulina) officinalis* a été l'objet de nombreuses études : BOUILLON-LAGRANGE (28) en 1804, FLEURY (81) (82) en 1870 et 1875, MASING (197) en 1875, JAHNS (152) en 1883, SCHMIEDER (272) en 1886, TSCHIRCH (316) en 1906 s'en sont occupés, surtout au point de vue des résines abondantes et variées qu'il contient et que TSCHIRCH classe parmi les résines à acides résinologiques ; les graisses extraites à l'éther de pétrole forment, d'après SCHMIEDER, 4 à 6% de la substance sèche et consistent en une huile rougeâtre ou brunâtre avec fluorescence verte, dans laquelle précipite un corps blanc cristallisé, l'agaricol,  $C_{10}H_{16}O$ , P. F. 223° ; elles contiennent en outre un stérol  $C_{26}H_{44}O$ , P. F. 159°, de l'alcool cétylique, un carbure solide  $C_{29}H_{54}$ , P. F. 125-126°, un autre carbure solide  $C_{22}H_{46}$ , P. F. 45°, un alcool aromatique liquide jaune  $C_9H_{18}O$ , une substance d'aspect résineux  $C_{11}H_{18}O$ , une résine molle jaune acide  $C_{15}H_{20}O_4$ , un acide gras  $C_{14}H_{24}O_2$ , de l'acide ricinologique ou un isomère  $C_{18}H_{34}O_3$  ; elles ne contiennent pas trace de propanetriol. De *Polyporus (Ganoderma) applanatus*, ZELLNER (349) obtient un extrait brun jaune peu abondant, présentant un indice d'acide de 53,58, un indice de saponification de 137,45, contenant de la lécithine et 32,26% d'insaponifiables dont un stérol. *Polyporus (Phellinus) dryadeus*, appelé *Boletus pseudoigniarius* par BRACONNOT (31), contient, d'après ce chimiste, une matière adipeuse jaune. Le *Boletus igniarius* étudié en 1804 par BOUILLON-LAGRANGE (28) semble être le *Polyporus (Phellinus) igniarius* qui a été analysé en 1908 par ZELLNER (342), ce dernier indique la présence de 1,08% d'huile jaune foncé, extractible par l'éther de pétrole, présentant un indice d'acide de 87,80 et contenant un stérol ; il signale en outre que l'alcool extrait une substance amorphe, insoluble dans l'eau, qui est probablement un phlobaphène et que l'éther extrait une résine semi-consistante. ZELLNER (352) encore, obtient de *Polyporus (Xanthochrous) hispidus*, par l'éther de pétrole, un extrait onctueux, jaune intense, présentant un indice d'acide de 104,4, un indice de saponification de 158,1 et contenant 18,6% d'insaponifiables.

Dans la famille des Fistulinacées, BOUGAULT et CHARAUX (26) signalent des stérols chez *Fistulina hepatica*.

Les espèces de l'ordre des Agaricales ont été particulièrement étudiées. Dans la famille des Hygrophoracées, *Hygrophorus limacinus* contient de l'ergostérol et du fongistérol, d'après GORIS et MASCRÉ (108), *Hygrophorus chlorophanus* également, selon BOUGAULT et CHARAUX (26).

Dans les Agaricacées de la sous-famille des Clitocybées, *Collybia tenacella* qui, suivant KONRAD (163), correspond à *Agaricus esculentus* contient, d'après A. ZEGA (336), de 0.8 à 0.12% de graisse. Chez *Collybia phaenopodia*, GORIS et MASCRÉ (108) signalent de l'ergostérol et du fongistérol, de même que chez *Collybia maculata*. Chez *Collybia shiitaka*, Ikeguchi (141) trouve un stérol identique à celui de *Hydnum asparatum*. Chez *Omphalia Campanella*, Fröschl et Zellner (87) signalent la présence de fongistérol, d'ergostérol et d'acides gras fluides et concrets.

Dans la sous-famille des Marasmiées, *Panus stipticus* a été étudié par BRACONNOT (32) qui indique l'existence d'adipocire, d'huile et de résines « combinées » aux matières grasses ; ZELLNER (350) pour le même Champignon séché à l'air trouve 1.18% d'extrait par l'éther de pétrole qui se présente comme une huile brune contenant un stérol. *Marasmius scorodonius*, étudié par Fröschl et Zellner (87) contient des stérols, des acides gras fluides, des acides gras concrets de P. F. 62-66° et d'indice de saponification 183.

Dans la sous-famille des Tricholomées, *Armillaria mellea* contient d'après BOUGAULT et CHARAUX (26) des stérols que ZELLNER (348) retrouve par une analyse plus complète du Champignon ; ce dernier indique l'existence d'une huile brun foncé contenant de la lécithine, 4.5% d'insaponifiables constitués par des stérols et de la résine, présentant un indice d'acide de 89.1, un indice de saponification de 179.6, un indice d'iode de 94.2. Chez *Armillaria edodes*, Ikeguchi (141) trouve encore un stérol identique à celui de *Hydnum asparatum*. GORIS et MASCRÉ (108) trouvent de l'ergostérol et du fongistérol chez *Tricholoma Georgii*, *T. album*, *T. pessundatum*, *T. terreum*, et BOUGAULT et CHARAUX, (26) signalent l'existence de stérols chez *T. acerbum* et *T. sulfureum*. Chez *Hebeloma firmum*, l'ergostérol et le fongistérol sont signalés par GORIS et MASCRÉ (108). Chez *Cortinellus Shiitaki*, SUMI (297) indique la présence d'ergostérol identifié par ses réactions et ses propriétés thérapeutiques après irradiation.

Dans la sous-famille des Amanitées, *Lepiota procera*, séché à l'air pendant 8 semaines, donne à ZELLNER (339), 3,21 % d'une graisse jaune clair en grande partie solide possédant un indice d'acide de 153,5, un indice de saponification de 202,6 et contenant des stérols que GORIS et MASCRÉ (108) identifient à l'ergostérol et au fongistérol. Chez *Amatina muscaria*, VAUQUELIN, (319), dès 1813, décèle de l'huile et de l'adipocire ; BOLLEY (20), en 1853, trouve un acide lichenstérique que KAISER (153), en 1862, montre être de l'acide palmitique impur ; ce dernier, en même temps, remarque l'acidité de la graisse. LUDWIG (188) indique une teneur en graisse de 12,5 à 30 %. BOUDIER (21) isole une graisse jaune soufre contenant, en solution, une substance cristallisable. En 1904 et 1905, ZELLNER et HEINRICH (130) (338) étudient la graisse obtenue par extraction à l'éther de pétrole dans la proportion de 6 % du Champignon séché à l'air. C'est une huile brune à faible fluorescence verte, contenant de l'acide butyrique à l'état de glycérade, de l'acide oléique libre, de l'acide palmitique libre et à l'état de glycérade, du propanetriol, de la lécithine (7,42 %), des stérols (0,26 à 0,39 %), un alcool terpénique, l'amanitol P. F. 40°C, une huile essentielle, une résine. Elle présente un indice de saponification de 227 et un indice d'acide qui croît avec l'âge du Champignon et avec un temps. En 1911, ZELLNER, (344) trouve dans la graisse un stérol  $C_{26}H_{30}O$ ,  $\alpha_D = -121^{\circ}2$  et une substance insoluble dans l'eau, peu soluble dans les solvants organiques usuels à froid, un peu plus à chaud, contenant un peu d'azote, pas de soufre ni de phosphore, et appartenant probablement au groupe des cérébrosides. Chez *Amanita phalloides* (1), VAUQUELIN (319) et BOUDIER (21) retrouvent les résultats obtenus chez *A. muscaria*. Chez *Amanita pantherina*, l'extrait par l'éther est constitué, d'après BÖHM (18), pour la plus grande partie de graisses saponifiables et d'une substance voisine des stérols, ne donnant pas la réaction de HESSE, cristallisant par repos et de P. F. 144-145° ; OPITZ (230) sur la graisse extraite par BÖHM depuis 6 ans, constate la réaction acide et la séparation de cristaux d'un stérol  $C_{26}H_{44}O$  présentant un point de fusion identique à celui indiqué par BÖHM et trouve, à l'analyse, du propanetriol, de l'acide oléique

(1) Nous pensons que *Agaricus bulbosus* se rapporte à cette espèce.

et de l'acide palmitique. Chez *Amanita rubescens*, BOUGAULT et CHARAUX (26) indiquent la présence de stérols. Chez une Volvaire (*Volvariæ sp.*) (1) BRACONNOT (30) trouve, dès 1811, une huile brune fluide, de l'adipocire et de la cire. *Pholiota squarro a* contient, d'après ZELLNER (348), 3.8% d'une graisse onctueuse, épaisse brun foncé contenant de la lécithine, 12.9% d'insaponifiables formés de stérol et de résine, présentant un indice d'acide de 51.8 et un indice de saponification de 168.3. Dès 1813, VAUQUELIN (319) étudie le Champignon de couche et y trouve des matières grasses; PAYEN (232), en 1846, en signale également; GOBLEY (106), en 1856, extrait de la Psalliote 0.25% de graisse constituée d'une partie liquide formée d'acides oléique et « margarique » et d'une partie blanche cristalline se rapprochant de la cholestérine et appelée agaricine; LEFORT (172), la même année, trouve une teneur en graisse de 0.15 à 0.2% et indique que la graisse se dissout facilement dans les alcalis « mais elle ne paraît pas s'y combiner car si on traite la solution par des acides on la précipite avec tous ses caractères » ce qui confirmerait qu'elle est formée d'acides gras libres; BOUDIER (21), en 1866, retrouve la graisse et une substance cristalline; KOHLRAUSCH (160), en 1867, confirme le point de vue de LEFORT; SCHULZE et FRANKFURT (276) signalent, en 1897, 0.32% de phospholipide; ZEGA (335), en 1900, indique chez *Psalliota campestris* pour le Champignon entier une teneur en graisse variant de 0.15 à 0.32% suivant les échantillons, pour le chapeau de 0.20 à 0.34 % et pour le pied de 0.12 à 0.20%, il montre l'existence de stérol et de protagon. HOFMANN (137) trouve 2.85% d'huile brune épaisse contenant de la lécithine et un stérol abondant et libre P. F. 160°,  $\alpha_D = 117^\circ$ . Enfin GORIS et MASCRÉ (108) montrent l'existence d'ergostérol et de fongistérol. Chez *Psalliota arvensis*, ZEGA (336) signale 0.18 à 0.15 de graisse. Chez *Psalliota xanthoderma*, GORIS et MASCRÉ (108) indiquent l'existence d'ergostérol et de fongistérol. Chez *Hypholoma fasciculare*, HARTSEN (126) indique, d'après FRIESS, la présence de mycostérine et de mycoraphiné, dont le mélange semble correspondre à l'agaricine de GOBLEY, dans la graisse semi-consistante extraite. ZELLNER (345), du même Champignon séché à l'air,

(1) *Agaricus volvaceus*.

extrait 2.4% d'huile peu fluide contenant 25% d'insaponifiables présentant un indice d'acide de 112.5 et un indice de saponification de 150.8, et dans laquelle il décèle un cérebroside, un stérol, une résine, des acides gras fluides, des acides gras concrets, du propa-netriol, de la lécithine. Chez *Hypholoma sublateritium*, BOUGAULT et CHARAUX (26) signalent l'existence de stérols.

Dans la famille des Lactariacées, de nombreuses espèces de Lactaires et deux Russules ont été étudiées par BOUGAULT et CHARAUX (23) (24) (25) (26), VAUQUELIN (319), ZELLNER (339) (348) (349) (352), FRIESS, d'après HARTSEN (126), GÉRARD (97) (98), ROUGE (263), BRACONNOT (30), BISSINGER (16), GORIS et MASCRÉ (108), ZEGA (336), CHODAT et CHUIT (46), THÖRNER (312) (313) (314). Il résulte de tous ces travaux que les Lactaires contiennent des quantités notables de graisse : 4.72% chez *L. vellereus* et *L. piperatus* d'après GÉRARD ; 8.46 d'après ZELLNER chez *L. vellereus* séché à l'air ; 0.92 à 1.20% chez *L. piperatus* d'après ZEGA, alors que ZELLNER indique 5.9% pour le même Champignon séché à l'air ; 11 à 12% chez *L. strobiculus*, selon ZELLNER. La constitution des graisses est assez voisine : toutes contiennent des stérols, ergostérol et fongistérol ; la présence d'acide butyrique est à peu près certaine, mais les autres acides volatils, acétique et formique, n'ont pas toujours été trouvés parmi les acides fixes, l'acide oléique est très constant, par contre, suivant les espèces on trouve de l'acide stéarique ou de l'acide lactarinique ou un mélange des deux, un acide pentadécanoïque, l'acide russulique de THÖRNER ou lactarique de CHODAT et CHUIT, trouvé également par BISSINGER, ne serait que de l'acide stéarique, d'après BOUGAULT et CHARAUX ; les acides gras sont en grande partie libre d'après ZELLNER qui indique des indices d'acide de 121.85 pour *L. strobiculus*, 121.3 pour *L. piperatus*, 131.6 pour *L. vellereus* ; la lécithine a été décelée dans de nombreuses espèces et paraît assez abondante ; enfin les graisses contiennent souvent des résines (ZELLNER, GÉRARD). *Russula integra* contiendrait, d'après THÖRNER, un acide pentadécanoïque et *Russula Queletii* possède des stérols.

Dans la famille des Coprinacés, *Coprinus atramentarius* contient d'après BRACONNOT, 15% d'une huile fluide jaunâtre et

*Coprinus comatus*, montre une teneur en graisse de 0.9% suivant ZEGA (336).

Dans la famille des Paxillacées, *Paxillus atrotomentosus*, séché à l'air, donne à ZELLNER (339), par l'éther de pétrole, 3% d'une graisse semi-consistante, jaunâtre, riche en insaponifiables (stérols) et présentant un indice d'acide de 75.1 et un indice de saponification de 150.2. Chez *Paxillus involutus*, BOUGAULT et CHARAUX (26) signalent des stérols.

Dans la famille des Bolétacées, les premières études peuvent être rapportées à BRACONNOT (30), qui, en 1811, trouve une huile brune fluide, de l'adipocire et de la cire chez un Bolet qu'il appelle *Boletus viscidus*, mais qui ne paraît pas correspondre à cette espèce. BOUDIER (21), en 1866, trouve, chez *B. edulis*, une graisse jaune soufre contenant une substance cristallisable, MARGEWICZ (195), dans la même espèce, trouve que la teneur en graisse varie avec l'organe : pied 4.41 %, hyménium 7.97 %, partie supérieure du chapeau 5.82 % ; STOHRER (294) arrive à des résultats analogues :

| Teneur en :             | Chapeau | Pied   | Champignon entier |
|-------------------------|---------|--------|-------------------|
| acides gras libres..... | 3.23 %  | 2.14 % | 2.90 %            |
| graisses neutres.....   | 2.43 %  | 1.82 % | 2.25 %            |

FRITSCH (90) décèle, dans le Cèpe, des stérols et de la lécithine, point que confirment SCHULZE et FRANKFURT (276) en indiquant une teneur de 1.94% en phospholipides. HOFMANN (137) indique une teneur de 3.2% en huile brune épaisse d'indice d'iode 102.7 à 105.1, contenant un stérol libre et de la lécithine. HIESTAND (133) trouve 0.97% de phosphore lipidique. De *Boletus elegans* séché à l'air, ZELLNER (339) extrait par l'éther de pétrole 2.52% de graisse de teinte foncée, en grande partie concrète contenant un stérol et présentant un indice d'acide de 132.5 et un indice de saponification de 176.6. BÖHM (18), en 1885, traite par l'éther *Boletus luridus* et constate que, par repos de l'extrait, il se sépare une substance cristallisée analogue à la cholestérine mais ne donnant pas la réaction de HESSE, de P. F. 144-145°, et que l'autre partie de l'extrait est constituée d'une résine molle brune, d'une graisse saponifiable et d'une huile essentielle à odeur de miel ; en 1891, OPITZ (230) analysant cette graisse y constate l'existence

de propanetriol, d'acides oléique et palmitique, 62.3% de ces acides étant à l'état libre. MARGEWICZ (195) trouve chez *Boletus scaber* des résultats analogues à ceux trouvés chez *B. edulis* : teneur en graisse 3.51% pour le pied, 5.81% pour l'hyménium, 4.07% pour la partie supérieure du chapeau ; de même chez *Boletus aurantiacus* : pied 6.32%, hyménium 8.53%, partie supérieure du chapeau 4.79%. Dans cette espèce BOUGAULT et CHARAUX (26) signalent des stérols, de même que chez *B. subtomentosus*. CHIAPELLA (45) indique que *Boletus Bellini* à l'état frais contient 91.76% d'eau et 0.41% de graisses extractibles à l'éther. Enfin pour *Boletus cavipes*, FRÖSCHL et ZELLNER (87) signalent l'existence d'une huile brune, épaisse, contenant une substance résineuse fluide, des stérols, les acides oléique et linoléique.

Nous n'avons trouvé aucun renseignement se rapportant à des espèces de Sécotiacées et de Poxadacées.

Les indications trouvées sur des espèces de l'ordre des Plectobasidiales se rapportent uniquement à la famille des Sclérodermacées. ZELLNER (351) indique que *Scleroderma vulgare*, séché à l'air, donne, par extraction à l'éther de pétrole, 2% d'une matière visqueuse brun rouge foncé, d'indice d'acide 68.9, d'indice de saponification 144.3, contenant de la lécithine, une petite quantité de propanetriol combinée et 27,26% d'insaponifiables formés de stérol et de résine. Pour l'extrait de *Polysaccum crassipes* obtenu de la même façon, ZELLNER indique l'indice d'acide 66.8, l'indice de saponification 141.7 et la teneur en insaponifiable 31.13%. Chez *Polysaccum pisocarpium*, FRITSCH (90) signale que la graisse est constituée de glycérides d'acides formique, acétique, butyrique, oléique, de stérol et de lécithine.

Enfin pour l'ordre des Gastromycètes, les renseignements que nous avons trouvés se rapportent à des espèces de Lycoperdacées et de Phallacées.

Chez *Lycoperdon gemmatum*, ZELLNER (339), indique une teneur en graisse de 1.2% rapportée à la substance séchée à l'air, la graisse est de consistance assez ferme, de couleur jaune pâle et présente un indice d'acide de 120.2 et un indice de saponification de 223.2. Chez le même Champignon, Ikeguchi (140) (141) indique la présence d'un mycostérol, mais l'individualité de cette substance est contestée (290). Chez *Bovista gigantea*, BAMBERGER

et LANDSIELD (5) trouvent deux stérols du groupe de l'ergostérol, l'un fondant à 158-159°, l'autre à 163°5-164, et une substance appartenant au groupe des cérébrosides; GÖRIS et MASCRÉ (108) précisent la présence d'ergostérol et de fongistérol.

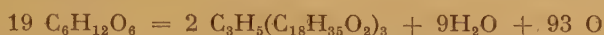
Chez *Ithyphallus impudicus*, BRACONNOT (31) trouve de l'adipocire et une matière huileuse, et CLAUTRIAU (47) précise que, dans le pédicelle, la teneur en graisse est de 3.38% avant l'allongement et de 2.37% après.

De ces données chimiques éparses et relativement peu nombreuses on peut conclure que, chez les Champignons, les graisses sont surtout abondantes dans les organes reproducteurs : spores, hyménium, ou les organes quiescents : sclérotés; qu'elles diminuent chaque fois qu'il se produit des modifications morphologiques rapides. D'autre part, autant qu'il est possible de comparer des résultats dissemblables par suite des différences et surtout des imperfections des techniques employées, il semble que les glycérides soient toujours plus ou moins mélangés d'acides gras libres, mais cependant l'acidité ne doit jamais être aussi grande que le signale ZELLNER qui, bien qu'ayant fait lui-même remarquer que la dessiccation lente entraînait une augmentation rapide de l'acidité, a effectué toutes les recherches sur du matériel séché pendant 8 semaines à l'air. On peut également indiquer la présence générale de stérols, la plupart du temps libres, et la présence non moins générale de lécithine. Enfin l'existence de composés terpéniques et de résine est beaucoup plus fréquente qu'on le suppose *a priori*. Par contre ces données chimiques ne fournissent aucun renseignement sur l'origine et sur le sort des graisses. Nous allons donc les rechercher dans les indications fournies par la cytologie.

La plupart des cytologistes qui ont observé les Champignons y ont constaté l'existence d'inclusions grasses. Il est évidemment impossible de citer ici tous les travaux qui les signalent et parmi la somme considérable d'indications micrographiques, nous ne retiendrons que celles qui peuvent fournir des renseignements utiles sur la physiologie des lipides. Nous envisagerons successivement la formation des graisses et leur utilisation.

A. DE BARY (63), en 1866, signale l'existence de gouttelettes d'huile dans la spore des Ascomycètes.

J. DE SEYNES (284), en 1872, indique la formation, chez le *Penicillium glaucum*, de gouttelettes d'huile dans les parties du mycélium longuement submergées. A. FREY (89), en 1927, fait des constatations analogues sur le *Sterigmatocystis nigra* et conclut que la formation des graisses dans les hyphes immergées serait le résultat d'une sorte de respiration interne, suivant la réaction générale :



FREY confirme d'ailleurs son hypothèse par des cultures dans l'anhydride carbonique dans lesquelles il constate que les filaments mycéliens sont bourrés d'inclusions grasses. Cependant chez les Levures, C. v. NÄGELI (222) a montré que l'oxygène est nécessaire à la formation des graisses, ce que confirme W. HENNEBERG (131) en indiquant que les inclusions grasses sont très abondantes dans les cellules qui se trouvent à l'air ; d'autre part A. FAMIN (77), chez le *Rhizopus nigricans* cultivé à des températures élevées, constate que le mycélium contient plus de graisses si la spore a germé à la surface du liquide que si elle a germé en profondeur.

L. ERRERA (74) (75), en 1882 et 1885, signale des inclusions grasses chez de nombreuses espèces d'Ascomycètes et de Basidiomycètes ; il note que très souvent les espèces les plus riches en huile sont pauvres en glycogène et que le glycogène servirait à produire l'huile suivant la réaction générale :



confirmant ainsi la nécessité de l'oxygène pour la formation des corps gras. P. A. DANGEARD (58), en 1891, ne pense pas que, chez *Saprolegnia Thureti*, où du glycogène et un globule oléagineux coexistent dans l'oosphère, l'huile provienne du glycogène ; mais en 1900, à propos d'une étude sur *Polyphagus Euglenae*, ce même auteur (59) indique qu'il faut rechercher s'il n'existe pas un lien étroit entre la présence du glycogène et la transformation oléagineuse subie par le protoplasme dans les kystes, les oospores et en général dans toutes les cellules qui passent à l'état de repos et d'autre part entre la formation du glycogène et celle d'inclusions spéciales qu'il appelait alors cœnosphères et qui ne sont autres que des liposomes. A. GIARD (104), en 1892, indique que dans les

hyphes du sclérote de l'*Isaria densa* se trouve du glycogène qui paraît donner naissance à des gouttelettes grasses.

En 1890, BELZUNG (12) constate que les grains d'amidon situés entre les hyphes de l'ergot et provenant du grain attaqué disparaissent au cours de la maturation pendant que se forment des gouttelettes oléagineuses dans les cellules du pseudoparenchyme. BELZUNG note, en outre, que ces gouttelettes confluent ensuite en grosses gouttes qui disparaissent quand le contenu cellulaire se raccornit probablement par une inversion du système colloïdal analogue à celle qui se produit dans le Ricin (Cf. POLICARD et MANGENOT (237)).

A un autre point de vue, A. GUILLIERMOND (118) indique que dans les asques des Ascomycètes, les inclusions grasses se rencontrent très fréquemment et qu'elles existent parfois en même temps que les corpuscules métachromatiques, mais que, le plus souvent, ce sont les espèces dépourvues de métachromatine qui en sont les plus riches. Les globules oléagineux se retrouvent dans les spores. Cette formation des inclusions grasses dans les spores a été également observée par F. G. KOHL (159) chez les levures, où les cellules mères sont riches en huile et en glycogène avant la formation des spores et n'en contiennent presque plus après. GUILLIERMOND pense que les globules oléagineux doivent jouer le rôle de produit de réserve. D'autre part, l'étude du chondriome de l'asque de *Pustularia vesiculosa* conduit ce cytologiste (119) à admettre la formation des gouttelettes huileuses à l'intérieur des chondriochontes, ce qui était conforme aux idées de l'époque sur la formation des graisses dans la cellule animale; mais par la suite (120) (121) ce savant a reconnu que les inclusions se formaient au sein du protoplasme et sans relation avec le chondriome.

A. LENDNER (181) indique, en 1897, que *Mucor flavidus* forme des gouttelettes d'huile incolore à l'obscurité et jaune à la lumière, cette formation étant surtout abondante dans les mycéliums âgés ou mal développés. F. GUÉGEN (115) insiste également sur ce facteur vieillesse pour la formation des gouttelettes huileuses chez *Penicillium glaucum*. BEAUVERIE (9) signale, pour cette espèce, l'action des toxiques. RAYBAUD (247) indique que le passage d'une culture de *Rhizopus nigricans* de l'obscurité à la lumière a pour effet d'augmenter le nombre des inclusions grasses, de même que

l'augmentation de la transpiration. De plus, cet auteur (248) signale que, dans le cas de milieux de culture acides ou alcalins, le Champignon est gêné dans sa croissance et l'huile s'accumule dans les filaments.

En 1922, FLIEG (83) indique que microchimiquement les graisses du *Sterigmatocystis nigra* semblent constituées surtout d'acide oléique libre et de très peu de glycérides.

ERRERA (76), le premier, en 1885, montre qu'au cours de la germination du sclérote oléagineux de *Claviceps purpurea* on voit disparaître l'huile qui est remplacée par du glycogène disparaissant à son tour : cette formation de glycogène transitoire lui paraît générale chez les Champignons à réserves oléagineuses.

BOUDIER (22), en 1914, après avoir montré l'importance, au point de vue systématique, des gouttelettes d'huile contenues dans les spores des Discomycètes, indique que celles-ci disparaissent au moment de la germination.

GUILLIERMOND (121) en 1922, indique également la résorption lente des inclusions grasses au cours de la germination des zoospores de Saprolégniées. Par contre, P. A. DANGEARD (60) constate qu'au cours de la germination de l'oospore de *Saprolegnia Thureti*, les liposomes conservent leur individualité et passent tels quels dans le filament germinatif pendant que d'autres liposomes de formation nouvelle viennent s'ajouter aux premiers.

Au total, les données cytologiques, outre la confirmation de l'existence générale des graisses chez les Champignons, nous montrent leur abondance dans les spores, les kystes et d'une façon générale les cellules passant à l'état de repos ; ces graisses proviennent de glucides et peut-être le glycogène sert-il ici d'intermédiaire ; elles sont utilisées au moment du passage des cellules de l'état de repos à l'état de vie active ; enfin sur les conditions de leur formation les résultats sont trop opposés pour qu'il soit possible de conclure.

Les travaux physiologiques effectués sur les graisses des Champignons se rapportent à trois groupes de préoccupations : comment et dans quelle condition se forment les graisses ? quelle est la nature de ces graisses ? quand et comment disparaissent-elles ? A ce dernier

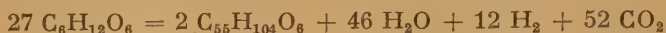
problème on peut annexer la question de la lipase chez les Champignons et leur nutrition par des substances grasses.

C. v. NÄGELI (222), dès 1880, étudie la formation des graisses chez un Penicille, constate la formation de graisse quel que soit l'aliment carboné et note que la présence d'oxygène est nécessaire à cette formation ; en 1882, C. v. NÄGELI (223) confirme ces résultats sur des levures. DE BARY (64), en 1884, pense que, chez les Champignons, la lipogénèse remplace l'amylogénèse des plantes chlorophylliennes. E. DUCLAUX (71) indique, en 1889, que la matière grasse qui apparaît dans les cellules de levure vieilles, se forme sur place et résulte de la nutrition de la levure aux dépens d'aliments médiocres non azotés : la dégénérescence grasseuse éprouvée par la levure traduit un état de souffrance. J. LABORDE (168), en 1897, trouve une dégénérescence grasse chez *Eurotiosis Gayoni*. W. HENNEBERG (131) confirme la formation des graisses chez les levures par dégénérescence et indique également la nécessité de l'oxygène pour cette formation.

En 1905, A. PERRIER (235), par des observations sur *Penicillium glaucum*, *Citromyces*, *Aspergillus*, Levure, *Eurotiosis Gayoni*, *Mucor mucedo*, *Corynespora Mazei*, montre que les graisses extractibles par l'éther se forment dès le début du développement et que leur formation est sans relation directe avec la nature de l'aliment carboné offert à la plante. DUBAQUIÉ (70), en 1909, publie une étude très bien conduite sur les matières grasses de *Sterigmatocystis nigra*, *Eurotiosis Gayoni*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium glaucum*. Cependant par suite d'une technique de dosage défectueuse : les graisses sont extraites au Soxhlet pendant 4 à 6 heures par l'éther, purifiées par filtration, séchées à 100° et pesées, les résultats sont susceptibles de revision. DUBAQUIÉ indique que la matière grasse est une réserve que la plante accumule pendant la période active de son développement et que la teneur en graisse est en corrélation avec le rendement, c'est-à-dire le rapport du poids de la substance sèche formée au poids du sucre consommé ; il constate que l'acidité du milieu de culture diminue la proportion des graisses, que la dégénérescence grasseuse de l'*Eurotiosis* et de la Levure ne se produit qu'en présence d'alcool et en l'absence d'oxygène, qu'au début de la végétation chez le *Sterigmatocystis nigra* l'indice de saponification est élevé puis diminue régulièrement

pendant toute la phase de croissance alors que l'indice d'iode, d'abord élevé, diminue, que chez les Champignons étudiés la teneur en phosphore lipidique diminue depuis le début de la culture jusqu'au maximum de développement, que, enfin, le phosphore joue un rôle fondamental dans le métabolisme des graisses. En 1913, R. GOUPIL (109), étudiant les composés phosphorés de l'*Amylomyces Rouxii*, trouve que la teneur en phosphore organique éthérosoluble est indépendante de la nature du milieu et qu'elle diminue au cours du développement. L'année suivante, le même auteur (110) indique que la matière grasse apparaît dès le début du développement et que sa quantité est maxima au maximum de celui-ci. I. SMEDLEY-MACLEAN (287), en 1922, sur la levure, trouve que les graisses libres existent en petite quantité dans les cellules normales, mais que le pourcentage de graisse augmente dans les cellules vieilles ou dégénérées, dans celles développées dans de mauvaises conditions ou dans celles exposées à l'action de poisons protoplasmiques. Elle note qu'une grande proportion de graisse est combinée aux protides ou aux glucides ; elle indique qu'une grande quantité d'oxygène et un aliment hydrocarboné abondant sont les conditions d'une lipogénèse active et enfin que les graisses dérivent des glucides. Par la suite, en collaboration avec D. HOFFERT (289), elle indique que l'alcool éthylique et l'acétate de soude peuvent être utilisés pour la synthèse des graisses et des glucides. L'addition de sulfite de soude ralentissant la formation de ces substances, l'acétaldéhyde serait un produit intermédiaire du métabolisme ; par contre, l'addition de sulfite à un milieu glucosé n'entravant pas la formation des glucides et des graisses, il en résulterait que l'acétaldéhyde est d'abord condensé en glucose et que celui-ci donnerait les glucides et les lipides sans passer par un intermédiaire de nature aldéhydique. Ces résultats sont à rapprocher de résultats déjà anciens de P. MAZÉ (200), (201) (202) qui a indiqué l'existence transitoire d'aldéhyde dans le métabolisme des aliments ternaires ; cependant ce chercheur pensait que même le glucose était absorbé sous forme d'éthanal. En 1926, P. BELIN (10) note la formation d'importantes réserves grasses chez le *Sterigmatocystis nigra* lorsqu'il est cultivé sur milieux déséquilibrés par augmentation unique de l'aliment glucidique et l'absence de réserves grasses lorsque l'aliment carboné est de nature protidique. En 1927, E.-F. TERROINE et BONNET

(305) indiquent que, chez cette même moisissure, la teneur en graisse augmente avec la teneur en glucose du milieu de culture et, considérant que le rendement de la lipogénèse est alors de 0.90, ils pensent qu'elle se fait suivant la réaction de MAGNUS-LÉVY :



E.-F. TERROINE, R. BONNET, G. KOPP et J. VECHOT (309) montrent la même année que le *Sterigmatocystis nigra*, cultivé sur milieux où la source de carbone est une graisse, contient toujours plus de stérols que sur milieux sucrés et, par une étude généralisée, arrivent à la conclusion que les stérols se forment aux dépens des matières grasses. A. HEIDUSCHKA et H. LINDNER (128) indiquent, en 1929, que l'oxygène favorise nettement la formation des stérols dans la levure, que la présence d'alcool est également favorable, mais que celle de lipides, phosphates, glucoses est indifférente. P. COCHET (36) (48), en 1930, montre chez *Penicillium glaucum* que le nitrate de potassium favorise la production de stérols, mais que son excès entraîne une diminution de la qualité de stérols et de lécithine proportionnelle à la quantité de nitrate en excès. P.-R. BOHN (19) sur le *Sterigmatocystis* confirme, avec le lévulose, les résultats obtenus par E.-F. TERROINE et BONNET avec le glucose quant à la formation des graisses. Enfin, en 1931, P. MANCEAU (192) indique que la présence d'un excès de chlorure de magnésium dans le liquide de culture ne modifie pas le métabolisme des stérols chez *Penicillium glaucum*.

P. BELIN (10) (11) puis E.-F. TERROINE et BELIN (304) en 1926 et 1927, montrent que les graisses des Champignons comme celles des Animaux sont constituées d'un élément variable (graisses de réserve) et d'un élément constant, formé de lécithine, indépendant de l'alimentation. Chez le *Sterigmatocystis nigra* cet élément constant forme environ 1.37% du poids de la substance sèche. L'élément variable, par contre, est variable non seulement quantitativement mais aussi qualitativement. E.-F. TERROINE, R. BONNET, G. KOPP et J. VÉCHOT (308) indiquent, que chez le *Sterigmatocystis*, l'indice d'iode des acides gras est d'autant plus élevé que la température à laquelle s'est effectué le développement est plus basse, ce que PEARSON et RAPER (233) établissent également pour *Rhizopus nigricans* et que E.-F. TERROINE,

Ch. HATTERER et P. ROEHRICH (310) généralisent aux graisses de l'élément constant.

Les premières indications sur la nutrition par les graisses chez les Champignons remontent à 1880 et 1881. VAN TIEGHEM (317) (318) trouva des moisissures se développant dans l'huile et y décèle une espèce de levure et le *Penicillium glaucum*. Les premières recherches précises sur la destruction des graisses à grosse molécule par les Champignons proviennent de R. B. SCHMIDT (271) qui indiqua que le *Sterigmatocystis nigra* peut être bien nourri avec de l'huile d'amande, mieux encore avec de l'acide oléique comme seule source de carbone. SCHMIDT constata, en outre, que le *Sterigmatocystis nigra* se développe mal sur des solutions de savons et que l'acide oléique est plus facilement assimilé que les acides saturés à grosse molécule tels que l'acide stéarique ou l'acide palmitique. *Penicillium*, *Mucor racemosus*, *Phycomyces nitens*, fournissent à SCHMIDT des résultats analogues. G. WEHMER (325) en 1891, indique que le *Sterigmatocystis nigra* cultivé en présence de 1.5 gr. d'huile d'olive donne 0.8 g. de substance sèche et il s'est formé en même temps 0.194 g. d'acide oxalique. En 1897, L. CAMUS (42) trouve que le liquide de culture du *Sterigmatocystis nigra* possède une activité lipasique assez faible bien que réelle. R. H. BIFFEN (14), en 1899, décèle une action lipasique chez une *Hypocréale* trouvée sur l'endosperme de noix de coco. J. HANUS et A. STOCKY (124), en 1900, montrent que *Penicillium glaucum*, *Mucor stolonifer* (*Rhizopus nigricans*), *Mucor racemosus*, *Mucor mucedo*, *Eurotium repens*, *Aspergillus glaucus*, *Sterigmatocystis nigra*, *Verticillium glaucum*, *Botrytis cinerea*, cultivés sur du beurre élèvent nettement l'indice d'acide de celui-ci. F. A. F. C. WENT (326), étudiant la formation des diastases chez *Monilia sitophila*, trouve que le développement est très lent sur milieux contenant du beurre, de l'huile d'arachide ou de l'huile d'olive, dans la proportion de 5%, comme unique source de carbone, cependant dans tous les cas il y a formation d'acides gras libres; en présence de propanetriol en plus des graisses le développement est plus rapide; enfin le filtrat d'une culture sur propanetriol-huile d'olive contient une lipase. En 1900, RUBNER (266) montre également l'hydrolyse des graisses par les Champignons. J. KÖNIG, H. SPIECKERMANN et W. BREMER (162), indiquent, en 1901, que la libération du

propanetriol par *Eurotium repens* n'est appréciable qu'avec la monobutyryne, alors qu'elle n'est pas nette avec l'huile de coton et que l'extrait aqueux du Champignon possède un pouvoir lipolytique. SCHREIBER (275), en 1902, étudie l'utilisation des graisses par les Champignons et les Bactéries du sol. P. MAZÉ (202), en 1902, trouve une utilisation de la glycérine par *Eurotiosis Gayoni* après transformation en éthanal. La même année, LAXA (171) obtient par expression de *Penicille* et de *Mucor* broyés un suc qui hydrolyse le beurre et la monobutyryne alors que le suc d'*Oidium* (*Oospora*) *lactis* n'a d'action que sur la monobutyryne. En 1903, Ch. GARNIER (93) trouve une lipase chez *Sterigmatocystis nidulans*, *Sterigmatocystis nigra*, *Sterigmatocystis versicolor*, mais ne peut obtenir leur développement sur monobutyryne à 1%. O. RAHN (243), en 1905, indique que lors de l'utilisation des graisses par une moisissure il se produit d'abord une utilisation du propane-triol puis les acides gras sont détruits en commençant par les acides inférieurs. E. ROUGE (263), en 1907, obtient de *Lactarius sanguifluus* une préparation active, spécifique des glycérides dont l'action lipolytique est retardée par une alcalinité même faible, et par l'acide sulfurique 20:100. A. ROUSSY (264) (265) cultive, en 1909 et 1911, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens*, *Sterigmatocystis nigra*, etc., sur du liquide de RAULIN contenant de 6 à 10% d'axonge, d'acides gras ou de glycérine et constate des développements très florissants, ce développement étant dû plus aux acides gras qu'à la glycérine sauf pour les *Aspergillées*. En 1909, M. T. DELEANO (66) décèle chez *Lactarius sanguifluus* deux lipases, l'une hydrosoluble, l'autre endocellulaire. La même année, J. SCHINDELMEISER (270) trouve que la poudre d'ergot de Seigle non dégraissée a une action lipolytique intense que ne possède plus la poudre dégraissée. En 1911, K. OHTA (228) étudie l'action lipolytique de *Cladosporium herbarium*, *Sterigmatocystis nidulans*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium glaucum*, *Actinomucor repens*, et trouve pour tous une action réelle. E. SCHNELL (273), en 1912, montre la méthode d'EIJKMANN la possibilité d'une lipolyse réelle par *Oidium* (*Oospora*) *lactis*. A. SPIECKERMANN (291), en 1912, montre, avec *Penicillium glaucum* isolé de la poussière, que 5% du propanetriol introduit dans les milieux de culture sous forme de glycérides disparaissent en 8 jours, et que 70 à 75% de celui-ci sont

utilisés pour le phénomène respiratoire ; il arrive d'autre part à la conclusion que les acides gras sont probablement absorbés sous forme de savons ammoniacaux ou calciques, les seuls qui se montrent assimilables.

En 1913, A. KIESEL (155), étudiant l'action des acides sur le développement du *Sterigmatocystis nigra*, indique que les acides gras se montrent toxiques et que leur toxicité croît avec le nombre des carbones ; ainsi la toxicité de l'acide caproïque dépasse celle de l'acide arsénique ; d'autre part les acides de la série iso sont moins toxiques que les acides correspondants de la série normale. A. SPIECKERMANN (292) reprend, en 1914, l'étude de la décomposition des graisses par les Champignons, et montre que l'aliment azoté a une influence sur l'activité de l'utilisation des acides gras surtout pour les acides supérieurs à  $C_{14}$  ; que dans la série des acides saturés, l'assimilabilité croît avec le poids moléculaire ; que les acides de la série acétique sont plus rapidement décomposés que les acides de la série acrylique. En 1921, R. SCHENKER (286), étudie l'activité lipolytique du *Sterigmatocystis nigra* et d'extraits lipasiques ; il indique que la croissance sur acides gras est plus faible que sur huile ou glycérine, qu'elle se produit très bien sur triglycérides, mais qu'elle n'a pas lieu sur monobutyryne ou sur des esters éthyliques ; il signale que jamais la formation abondante d'acide oxalique signalée par WEHMER n'a été retrouvée ; enfin il montre que le pouvoir lipasique du précipité acétonique de l'extrait mycélien est modéré par la présence de propa-netriol, d'acide acétique ou d'acide oxalique. P. FLIEG (83), en 1922, apporte avec le *Sterigmatocystis nigra*, des résultats infirmant en grande partie ceux que SPIECKERMANN avait obtenus avec le *Penicillium*, il montre, en effet, que le développement est d'autant plus rapide que l'indice d'iode est plus élevé ; il indique en outre que les produits intermédiaires du métabolisme lipidique semblent être des amyloïdes. YWAO OGAWA (229) étudiant la lipase de l'*Aspergillus oryzae*, indique que son activité est maxima dans les milieux présentant un pH compris entre 8.46 et 9.31. E.-F. TERROINE, R. BONNET et P. DUQUÉNOIS (307) indiquent, comme FLIEG, que le rendement et la vitesse de développement sont d'autant plus grands que les acides gras fournis comme aliment carboné possèdent un indice d'iode plus élevé. Th. K. WALKER

et Ph. D. COPPOCK (322), Ph. D. COPPOCK, V. SUBRAMANIAN et Th. K. WALKER (51), étudient, en 1928, la dégradation des acides propionique, butyrique et valérianique par le *Sterigmatocystis nigra* ; ils constatent la formation d'hydroxylacides, de cétoacides, d'alcool et de cétones. K. KUESSER (164), par cultures de *Penicillium glaucum* sur des milieux, dont la source de carbone est la trioléine, la tripalmitine ou l'huile de Sésame, montre qu'il se produit déjà en dehors des cellules une lipolyse avancée ; comme produits intermédiaires il se forme, hors de la cellule, des corps iodofixateurs, des acides inférieurs, des combinaisons hydroxylées et des corps insaponifiables ; la dissociation des glycérides élevés en des produits à plus faibles poids moléculaires serait, d'après l'auteur, absolument nécessaire pour l'assimilation. En 1930, A. IURACEC (148) (149) étudie l'action du pH sur l'activité de la lipase extraite du *Sterigmatocystis nigra* et trouve que, quel que soit le mode d'extraction de celle-ci, extraction par le propanetriol du mycélium frais ou extraction par le phosphate disodique du mycélium sec, le pH optimum est égal à 7.8 pour les trois glycérides essayés : triacétine, monobutyryne, trioléine.

Enfin la disparition des graisses contenues dans les Champignons a été relativement peu étudiée. CLAUTRIAU (47), en 1899, indique un abaissement du taux des graisses pendant l'allongement du pédicelle d'*Ithyphallus impudicus*. A. PERRIER (235) trouve, en 1905, que, pour des moisissures appartenant à de nombreuses espèces et des Levures, les graisses disparaissent dès que l'aliment carboné fait défaut dans le milieu de culture. DUBAQUIÉ (70), par contre, soutient, en 1909, que la graisse contenue dans le mycélium est utilisée, non dans la mesure où l'aliment extérieur fait défaut, mais suivant l'âge de la culture ; l'utilisation se fait par une hydrolyse préalable avec combustion immédiate du propanetriol et des acides gras inférieurs, puis par oxydation des acides gras supérieurs donnant ainsi des acides à moins grosses molécules. En 1914, R. GOUPIL (110), avec l'*Amylomyces Rouxii*, montre que la moisissure n'utilise pas les graisses accumulées tant que le milieu de culture contient des traces d'aliment carboné, mais que la teneur en graisse diminue rapidement si la moisissure est séparée du liquide sur lequel elle a végété, cette diminution est accompagnée d'une augmentation

de l'indice d'acide et d'une diminution de l'indice de saponification, A. KIESEL (157), en 1927, constate qu'au cours de la fructification de *Lycogala epidendron* la teneur en huile diminue, la teneur en stérols augmente, l'indice d'acide de l'extrait éthéré augmente bien que la quantité d'acides gras totaux diminue, cette diminution portant surtout sur les acides saturés.

Au total, on peut admettre que les Champignons forment des graisses tant que leur alimentation carbonée est assurée, qu'une partie de ces graisses disparaît quand celle-ci leur fait défaut, que cette disparition est précédée d'une hydrolyse due à une lipase et que le propanetriol libéré est utilisé surtout comme aliment respiratoire ; que les acides gras sont transformés en composés hydroxylés, aldéhydiques ou cétoniques d'autant plus rapidement qu'ils possèdent plus de liaisons éthyléniques dans leur molécule ; qu'une partie des graisses fait partie intégrante du protoplasme et ne peut subir de variations quantitatives que de faible amplitude.

On savait déjà grâce aux travaux de MANGIN (194), MOLLIARD (215), etc., que la morphologie du *Sterigmatocystis* ainsi que celle des autres Aspergillacés subit de profondes modifications sous l'action du milieu extérieur. On savait aussi que ces variations morphologiques sont accompagnées de modifications du chimisme du Champignon et en ce qui concerne les lipides, TERROINE et ses élèves (305) (306) (309) ont étudié surtout l'influence du milieu organique sur le métabolisme lipidique ; par contre, l'influence du milieu minéral n'a été qu'entrevue par DUBAQUIÉ (70) et avec une technique laissant beaucoup à désirer. C'est pourquoi nous nous sommes proposé de faire méthodiquement l'étude de l'évolution quantitative de lipides totaux dans un milieu où le *Sterigmatocystis* effectue un développement normal et de comparer à celle-ci l'évolution quantitative des lipides totaux dans des milieux dans lesquels un élément minéral seul subit des modifications par rapport au milieu témoin. Nous n'avons pas séparé expérimentalement les lipides de l'élément constant des lipides de l'élément variable, mais cependant ayant étudié les variations du phosphore lipidique il nous a été possible d'estimer approximativement les acides gras de l'élément constant et, par différence

avec les acides gras totaux, de déterminer l'ordre de grandeur de la quantité des acides gras de l'élément variable.

Chaque fois que la quantité de substance disponible le permettait, nous avons fait quelques déterminations qualitatives telles que le point de fusion des acides gras totaux, leur poids moléculaire moyen, leur indice d'iode moyen.

Nous décrirons successivement les méthodes de culture que nous avons employées, puis les techniques de dosage. Nous indiquerons ensuite nos résultats expérimentaux en mentionnant, pour chaque milieu de culture essayé, les conclusions auxquelles nous avons été conduit. Enfin nous tirerons les conclusions générales qui peuvent se dégager de nos expériences. Cependant nous intercalerons un chapitre consacré à une substance très abondante chez le *Sterigmatocystis* et que nous appellerons, sans préjuger de rien, plastine, par analogie avec le produit décelé par REINKE dans le plasmode de *Fuligo septica*.

L'étude que je présente est loin d'être complète et définitive ; elle pose plus de questions qu'elle n'en résout, mais « la prétention d'être complet dont on abuse si souvent n'est qu'une pure illusion en physiologie » a dit Claude BERNARD. J'ai poussé aussi loin que le permettaient les méthodes analytiques actuelles l'étude que je m'étais proposée, j'ai cherché à expliquer mes résultats à l'aide de faits déjà établis et si j'ai risqué parfois quelques hypothèses, ce ne sont que des hypothèses de travail que je me propose de reprendre si j'en ai la possibilité matérielle.

Je dois, avant de terminer cette introduction, remercier M. le Professeur M. MOLLIARD, qui me recevant dans son laboratoire, licencié frais émoulu, a su guider mes premiers pas dans la recherche et m'inculquer la prudence dans l'interprétation des résultats d'expérience. Il y fut aidé par M. R. COMBES, le Professeur dont l'esprit critique et la profonde connaissance des questions de Chimie végétale est d'un puissant secours pour le chercheur débutant, par M. E. MICHEL-DURAND, Sous-Directeur du Laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau, et par M. A. CREPIN, Chef des travaux de Physiologie végétale à la Faculté des Sciences, qui me conseillèrent sur des détails de technique. Que M. A. GUILLIERMOND, Professeur à la Faculté des Sciences, et

que M. S. BUCHET, Assistant au laboratoire de Botanique, veulent bien trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour les conseils et les renseignements qu'ils m'ont donnés sur la systématique des Champignons. Que tous mes amis du Laboratoire de Physiologie végétale soient aussi remerciés pour les idées qu'ils me suggérèrent au cours de conversations parfois très animées.

Enfin, je crois devoir emprunter, en ne les modifiant que très peu, les nobles phrases que M. le Professeur E.-F. TERROINE, dont les travaux furent pour moi un guide précieux, plaçait dans l'introduction de sa thèse de Sciences naturelles (302) :

« En présentant aujourd'hui cette étude, je ne puis pas ne pas me souvenir et ne pas dire que si j'ai pu l'entamer et la poursuivre, c'est à la Démocratie que je le dois.

« Elève de l'Ecole primaire communale, boursier au Collège municipal Chaptal » bénéficiaire de bourses d'Enseignement supérieur pour lesquelles je remercie le Conseil de l'Université, « c'est pour avoir profité de ces moyens qui peuvent permettre à tous de se développer au mieux de leurs aptitudes que je puis aujourd'hui briguer le plus haut grade conféré à un travailleur par l'Université.

« Malgré l'universelle évolution libérale, peu de pays mettent de telles possibilités à la disposition de tous. C'est dire que je sais ce que je dois à la Démocratie française ; mon ambition n'aura jamais de but plus élevé que d'être son plus dévoué serviteur ».

---

## II. — MÉTHODES DE CULTURE.

Les méthodes de culture que nous avons employées sont les méthodes classiques de culture pure de Champignons sur milieux artificiels. Nous avons utilisé une souche mise à notre disposition par M. le Professeur MOLLIARD. Nous avonsensemencé à partir de cette souche des tubes de carotte qui ont constitué notre souche primitive.

Sauf cas exceptionnels, les cultures ont été faites dans des flacons coniques de 1 litre en verre de Bohême présentant des dimensions aussi comparables que possible et garnis de 150 cm<sup>3</sup> de liquide nutritif. Après stérilisation à l'autoclave et refroidissement, les flacons étaient ensemencés faiblement de façon aussi semblable que possible avec des conidies prélevées avec un fil de platine sur la souche primitive. Tous les flacons d'une même série étaient ensemencés à partir du même tube de carotte. En général, douze flacons étaient ainsi préparés et placés ensemble dans l'étuve à 34° C. Lorsque dès le début, les mycéliums présentaient un développement inégal ou irrégulier, la série entière était rejetée. Dans le cas contraire, les récoltes commençaient habituellement après 48 heures de séjour à l'étuve et se poursuivaient de 24 en 24 heures, à raison de trois flacons chaque fois ; cependant la dernière récolte ne se faisait qu'au bout de 168 heures ou 8 jours. A chaque récolte, le pH du liquide de culture était mesuré colorimétriquement.

Les liquides nutritifs employés sont les liquides déjà utilisés par M. MOLLIARD (209) (214) et par F. OBATON (227). Ils ont été préparés suivant les techniques indiquées par ces auteurs à partir de solutions mères mélangées et étendues en proportions convenables au moment de l'emploi. Un premier liquide de pH initial 4,2, que nous appellerons milieu normal, avait la composition suivante :

|                                       |                                  |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| Saccharose.....                       | 46.667 g.                        |
| NO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub> ..... | 3.560                            |
| PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> ..... | 0.947                            |
| SO <sub>4</sub> Mg, 7 aq. ....        | 0.407                            |
| SO <sub>4</sub> Fe, 7 aq. ....        | 0.047                            |
| SO <sub>4</sub> Zn, 7 aq. ....        | 0.047                            |
| Eau .....                             | q. s. pour 1.000 cm <sub>3</sub> |

Un deuxième liquide, que nous appellerons milieu à tendance acide, avait une composition identique, sauf en ce qui concerne la source d'azote. Celle-ci était du chlorure d'ammonium en quantité telle que le Champignon eût toujours autant d'azote à sa disposition. Par suite de l'utilisation de l'ammoniaque, il se produisait une libération d'acide chlorhydrique qui, au moins au début du développement, tendait à augmenter l'acidité du milieu. Ce liquide, dont le pH initial était 4,5 avait la composition suivante :

|                                       |                                  |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| Saccharose.....                       | 46.667 g.                        |
| ClNH <sub>4</sub> .....               | 4.756                            |
| PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> ..... | 0.947                            |
| SO <sub>4</sub> Mg, 7 aq. ....        | 0.407                            |
| SO <sub>4</sub> Fe, 7 aq. ....        | 0.047                            |
| SO <sub>4</sub> Zn, 7 aq. ....        | 0.047                            |
| Eau .....                             | q. s. pour 1.000 cm <sup>3</sup> |

Un troisième liquide que nous désignerons sous le nom de milieu à tendance alcaline, possédait la même composition que le milieu normal sauf encore en ce qui concerne la source d'azote. Cet élément, toujours en quantité égale, était fourni sous forme uniquement nitrique. Au cours de son utilisation, l'acide nitrique libérait la base qu'il salifiait, et celle-ci tendait à rendre le milieu moins acide. Ce troisième liquide de pH initial 4,6 avait la formule :

|                                       |                                  |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| Saccharose.....                       | 46.667 g.                        |
| NO <sub>3</sub> K.....                | 8.996                            |
| PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> ..... | 0.947                            |
| SO <sub>4</sub> Mg 7 aq. ....         | 0.407                            |
| SO <sub>4</sub> Fe, 7 aq. ....        | 0.047                            |
| SO <sub>4</sub> Zn, 7 aq. ....        | 0.047                            |
| Eau .....                             | q. s. pour 1.000 cm <sup>3</sup> |

Il convient de remarquer que ce liquide contient un excès de potassium de 3,861 g. par litre.

Un quatrième liquide, appelé par la suite milieu tampon ou encore milieu neutre, n'est pas autre chose que le milieu normal additionné de 3 p. 1.000 de carbonate de calcium, soit 0,45 g. par flacon de culture. Ce milieu présente un pH initial de 6,2. Nous avons également utilisé des liquides nutritifs déséquilibrés par défaut total ou partiel de potassium et en particulier un milieu dans lequel la quantité de potassium était réduite au  $1/5$  de sa valeur normale. Enfin nous avons aussi employé, mais accessoirement, des liquides nutritifs ou des milieux solidifiés par la gélose dans lesquels le saccharose était remplacé en partie, ou en totalité, par d'autres substances organiques fournissant au Champignon une dose équivalente de carbone. Nous reviendrons par la suite sur ces milieux spéciaux.

---

### III. — MÉTHODES DE DOSAGE DES LIPIDES

#### A. — GÉNÉRALITÉS ET HISTORIQUE SOMMAIRE

Les anciennes méthodes de dosage des lipides consistaient à épuiser l'échantillon à étudier par un solvant organique, généralement l'éther ou le chloroforme, et à peser l'extrait sec obtenu (49). On admettait que l'extrait était constitué uniquement de lipides et contenait tous les lipides de l'échantillon. Cette méthode n'était pas très rigoureuse pour plusieurs raisons. D'abord il fallait soumettre l'échantillon étudié à la dessiccation pour qu'il puisse être mouillé par le solvant utilisé. Des recherches d'ordre industriel ont montré que la dessiccation pouvait n'être pas aussi poussée qu'on le croyait et qu'en particulier pour les épuisements industriels par la ligroïne bouillant au-dessous de 70°, il suffisait d'amener la teneur en eau du produit à 10 pour 100 ; pour les épuisements au trichloréthylène, l'industrie admet qu'ils sont complets et qu'ils ne modifient pas la nature des graisses s'ils sont effectués à l'abri de la lumière, même sur du matériel riche en eau tel que des olives fraîches. La valeur de ces solvants pour les recherches d'ordre physiologique n'est pas démontrée : certaines graisses, huile de Ricin entre autres, n'étant solubles dans la ligroïne qu'à la faveur d'impuretés et de phénomènes de solubilités réciproques, d'autre part, l'usage de ces solvants nécessite généralement une dessiccation préalable. Cette dessiccation doit être faite très rapidement, donc à l'étuve, pour éviter des variations quantitatives des lipides sous l'action de la lipase : or le chauffage à 100-110° a pour effet de modifier considérablement les caractéristiques des graisses et d'entraîner des pertes considérables comme l'a montré TAMURA (298). C'est pourquoi certains auteurs, GRAFE (111), ROSENFELD (262), proposèrent de dessécher le matériel par un épuisement à l'alcool, avant le traitement par un solvant convenable des lipides. L'alcool chaud entraînant une certaine quantité de lipides, quand ce n'est pas la totalité, il fallait par évaporation de l'alcool et épuisement de la liqueur hydroalcoolique récu-

pérer ces lipides. D'autre part, un inconvénient non moins grave de ces anciennes méthodes est qu'un certain nombre de substances non lipidiques telles que les résines, les alcaloïdes, les essences, etc., peuvent être entraînées avec les lipides par leurs solvants habituels. Enfin toutes les graisses peuvent n'être pas dissoutes par le solvant employé. Ces méthodes basées sur l'épuisement par un solvant convenable et pesée de l'extrait obtenu ont donc surtout un intérêt industriel, car elles donnent un produit qui possède les caractéristiques des substances grasses qu'un traitement analogue peut fournir à l'usine.

C'est ce qui explique pourquoi, dès 1908, KUMAGAWA et SUTO (165) (166) proposèrent de doser les lipides par pesée des acides gras provenant de la saponification d'un extrait obtenu par l'alcool bouillant. Cette technique vérifiée par SCHIMIZU (285), INABA (142) et WATANABE (324) a été par la suite discutée et plus ou moins modifiée dans ses détails par GRIMBERT et LAUDAT (113), LAUDAT (169), MAYER et SCHAEFFER (198) (199), TERROINE (302) (303), LEMELAND (176) (177) (178) (179) (180), BELIN (10). C'est celle que nous avons employée en tenant compte des remarques faites par ces auteurs ; nous décrirons cette méthode en détail dans le paragraphe suivant.

Cette technique de KUMAGAWA, relativement simple et exacte, présente cependant l'inconvénient de ne pas fournir les lipides à l'état naturel, empêchant certaines études qualitatives : aussi certains auteurs suivant ISCOVESCO (143) (145) utilisent encore une méthode d'épuisements fractionnés par des solvants divers. Mais, comme ISCOVESCO (146) (147) lui-même le reconnaît, il faut avoir recours à la méthode de KUMAGAWA si on désire une détermination quantitative précise ; en effet, le premier solvant employé étant généralement l'éther, cette méthode, tout en permettant *a priori* un épuisement plus parfait, soulève les objections faites à propos des épuisements par solvants des lipides et pesée des extraits.

Cependant il convient de noter que certaines méthodes récentes, basées sur l'emploi de solvants à point d'ébullition assez élevé et non miscibles dans l'eau, tels que l' $\alpha$ -chloronaphtalène (KALOYEREAS, CRUESS et LESLEY (154)), la benzine additionnée de 4 à 6% d'alcool isobutylique ou d'alcool amylique

normal (PRJANISCHNIKOF et TELNOF (242)), le trichloréthylène (BULL, (39), HEIDUSCHKA et NEUMANN (129)) dans lesquelles on détermine rapidement et simultanément la teneur en eau par mesure du volume d'eau entraînée par le solvant, comme dans la méthode classique de MARCUSSE, et la teneur en graisse, soit par pesée de l'échantillon avant et après traitement, soit par variation de la densité du solvant ou par la variation de son pouvoir rotatoire. Il convient enfin de citer quelques méthodes de microdosage comme la méthode chromométrique de I. BANG (6) que Th. V. FELLEBERG (78) recommande pour le dosage rapide des graisses alimentaires, la méthode néphélométrique de W. R. BLOOR (17), la méthode colorimétrique de J.-A. MILROY (205); ces techniques très originales ne paraissent pas présenter *a priori* le degré de certitude que l'on exige des méthodes utilisées en physiologie.

Pendant que l'on cherchait des méthodes globales de détermination quantitative des lipides, certains auteurs s'attachaient plus particulièrement à la séparation et au dosage de l'un de leurs constituants. LEWKOWITSCH et BONToux (184) citent la plupart des travaux effectués sur les méthodes de séparation des acides gras saturés des acides gras non saturés, sur les méthodes de séparation des acides gras solides, etc. Nous ne rappellerons comme techniques particulièrement intéressantes que la méthode d'alcoolyse des graisses, due à HALLER (122), qui permet de reconnaître qualitativement tous les acides gras d'un lipide complexe, de même qu'une autre méthode plus récente basée sur l'action des amines aromatiques sur les glycérides (218) et la méthode de LEWIS (183) basée sur l'action de la phénylhydrazine et de l'hydroxylamine.

Pour le dosage du propanetriol, il suffit de rappeler les méthodes de NICLOUX (226) par le bichromate de potasse, de CHAUMEIL (43) par l'acide iodique, méthode critiquée d'ailleurs par BERNARD (13), de BUISINE (38) par l'action des alcalis, de ZEISEL et FANTO (337) par l'acide iodhydrique, de BULL (40) par le glycérate de soude, de RAVENNA (245) par le permanganate, et deux techniques de microdosage, la première due à C. de COQUET (53) basée sur la transformation du propanetriol par l'eau bromée saturée, en dioxycétone dont le dérivé par anhy-

dridation, le méthylglyoxal, fournit en milieu sulfurique à 100° C avec la codéine une belle coloration bleue teintée de vert, la seconde de FLASCHENTRÄGER (80), adaptation de la méthode de ZEISEL et FANTO à des petites quantités de propanetriol.

Aux méthodes de détermination quantitative des stérols indiquées par GRÜNHUT, (114), il faut ajouter la méthode colorimétrique de GRIGAUT (112) basée sur la réaction de LIEBERMANN, méthode perfectionnée par LAURENT-GÉRARD (170), et reprise par LING (185), la méthode colorimétrique de ISCOVESCO (144) basée sur la réaction de TSCHUGAIEFF, la méthode de MAYER et SCHAEFFER (198), (199) combinaison des méthodes de KUMAGAWA-SUTO et WINDAUS, la méthode colorimétrique de COQUELET (52) basée sur la réaction de PETTENKÖFER, et enfin les modifications de détail apportées à la méthode de WINDAUS (330) (331) par précipitation avec le digitonoside (digitonine ou digitaléine) par CAMINADE (41) et par GIRARDIN et SPACH (105).

La séparation et le dosage des phospholipides peuvent être effectués par de nombreuses méthodes. La plus ancienne est celle que BORDAS et RACZKOWSKI (29) ont employée pour le dosage de la lécithine du lait par séparation de l'acide glycérophosphorique et dosage du phosphore. FOURNEAU et PIETTRE (86) ont appliqué la méthode d'alcoolyse, LEMELAND (180) préconise le dosage du phosphore dans le produit obtenu par reprise avec l'éther anhydre de l'extrait alcoolique desséché d'un épuisement au KUMAGAWA. Mademoiselle LE BRETON (174) signale dans le produit obtenu par reprise avec l'éther, l'existence de substances phosphorées autres que les phosphoaminolipides, mais estime cependant (1) que l'on peut pour les dosages en série et comme première approximation conserver la technique de LEMELAND. Nous ne signalerons pas les techniques de dosage du phosphore dans les produits biologiques, nous négligerons également les méthodes de minéralisation.

Certaines de ces techniques spéciales sont ou bien uniquement qualitatives, ou bien demandent, quand elles sont quantitatives, des quantités de matière première incompatibles avec les possi-

(1) Communication personnelle dont je la remercie.

bilités d'une étude physiologique. D'autres sont très longues ou nécessitent un matériel tellement spécial qu'il est impossible de les employer de front avec d'autres techniques. Aussi nous n'avons retenu comme techniques spéciales que le dosage des stérols par la méthode GIRARDIN et SPACH et le dosage du phosphore lipidique par la technique de LEMELAND.

Nous n'avons eu connaissance des techniques de microdosage de la glycérine qu'après avoir eu complètement terminé ce travail, et nous le déplorons car leur emploi nous eût permis de serrer de plus près le problème du métabolisme des lipides chez le *Sterigmatocystis*.

## B. — EXPOSÉ ET CRITIQUE DE LA MÉTHODE ADOPTÉE

Nous n'avons rien innové en matière de technique : nous nous sommes contenté d'appliquer parmi les méthodes couramment employées dans les laboratoires celles qui nous ont semblé les plus pratiques, c'est-à-dire que nous avons utilisé pour nos recherches la technique de KUMAGAWA et SUTO, plus ou moins modifiée à la suite des remarques de MAYER et SCHAEFFER (199) de LEMELAND (180), de BELIN (10) de GIRARDIN et SPACH (105). Nous décrirons sommairement les principaux points de la technique finalement adoptée : récolte, extraction, séparation et dosage des insaponifiables totaux, dosage des stérols, séparation et dosage des acides gras totaux, dosage du phosphore lipidique. Cependant avant d'entreprendre cet exposé, nous tiendrons à réfuter quelques objections et d'abord une qui nous a été faite verbalement au cours de nos recherches au sujet de l'emploi de la méthode d'extraction par l'alcool bouillant. On nous a dit, en effet, que, au cours de l'extraction, une éthanolyse se produisait et qu'elle était susceptible de modifier profondément les résultats. Rien ne prouve cependant que cette alcoolyse se produise : celle-ci ne se produit en effet qu'en milieu rigoureusement anhydre et fortement acide (Cf. HALLER (122) ; or, au cours de l'extraction au KUMAGAWA, le milieu n'est jamais anhydre et son acidité n'est qu'une acidité organique, et EMERSON et DUMAS (73) ne signalent au cours de l'ébullition prolongée de graisses naturelles dans l'alcool

qu'une légère estérification des acides gras libres. D'autre part, en supposant que cette éthanolyse se produise, ce qui, nous le répétons, n'est pas démontré, elle ne nuirait en rien à l'exactitude des résultats : ce n'est pas l'extrait alcoolique qui est pesé, mais les acides gras qui résultent de la saponification de cet extrait, et s'il s'était formé pendant l'extraction des esters éthyliques, ceux-ci seraient détruits par la saponification.

Une autre objection, celle-là plus grave, faite à la méthode de KUMAGAWA est que l'extraction serait incomplète. Les auteurs de cette objection se basent sur le fait qu'après un épuisement du matériel étudié par l'alcool bouillant, un épuisement à l'éther donne encore un extrait appréciable. Cela, bien que peu vraisemblable, est peut-être exact dans certains cas, mais en ce qui concerne le *Sterigmatocystis*, nous avons plusieurs fois constaté que notre matériel épuisé par l'alcool au KUMAGAWA donnait par traitement à l'éther au SOXHLET un extrait, peu abondant d'ailleurs, dans lequel n'existaient ni acides gras ni stérols. Nous avons également recherché microchimiquement les lipides dans le matériel épuisé au KUMAGAWA, et jamais nous n'avons pu en déceler. Nous sommes donc en droit d'affirmer que, dans le cas du *Sterigmatocystis*, l'extraction des lipides par la méthode de KUMAGAWA est complète. Enfin, on peut reprocher à la méthode de KUMAGAWA-SUTO d'entraîner une certaine quantité de résines dont la présence dans les insaponifiables (résènes et résinotannols) et dans les acides gras (acides résinologiques) peut conduire à des résultats erronés. Ce reproche est fondé dans le cas de matériel riche en résines, bien que la quantité de résines entraînées ne soit jamais très considérable vu la solubilité assez réduite de ces substances dans l'éther de pétrole. Le lavage des produits avec une solution d'hydrate de chloral à 60% ne peut se recommander, car si l'hydrate de chloral est un bon solvant des résines, c'est également un solvant des stérols, comme SCHERER (269) l'a montré.

I. — **Récolte du matériel.** — Trois mycéliums de *Sterigmatocystis* cultivés dans les conditions décrites plus haut, sont récoltés simultanément, lavés à l'eau, essorés sur une toile fine et dilacérés finement. Le produit obtenu est divisé en trois lots de même

poids, chaque lot représentant ainsi un mycélium moyen. L'un est mis à l'étuve à 100-110° jusqu'à poids constant pour la détermination du poids de matière sèche d'un mycélium, les deux autres sont immédiatement fixés dans dix fois leur poids d'alcool à 95% bouillant.

2. — **Extraction.** — Chacun des lots fixés par l'alcool bouillant est séparé de l'alcool de fixation dans une cartouche en cellulose pure et épuisé par 100 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95° dans l'appareil de KUMAGAWA pendant 8 heures. L'extrait alcoolique joint à l'alcool de fixation est transvasé quantitativement dans un ballon à distiller de 500 cm<sup>3</sup>, et évaporé sous le vide à une température ne dépassant pas 70° C. La distillation de l'un des extraits, celui qui est destiné à la saponification, n'est poussée qu'à consistance sirupeuse ; la distillation de l'autre extrait devant servir au dosage du phosphore lipidique est poussée jusqu'à siccité. Pour obtenir la siccité parfaite, il est pratique d'ajouter, comme le recommande LEMELAND (180), 10 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu, de refaire le vide le plus poussé que peut donner la trompe, de remettre le ballon au bain-marie à 70° et enfin de le plonger jusqu'au col dans l'eau bouillante pendant une ou deux minutes quand presque tout l'alcool a été distillé.

3. — **Saponification, séparation et dosage de l'insaponifiable.** — L'extrait alcoolique amené par distillation sous le vide à très faible volume est additionné de 50 cm<sup>3</sup> de potasse 2N dans l'alcool à 95°. Le ballon est recouvert d'un réfrigérant de HOPKINS descendant très bas dans le col du ballon de façon à éviter pendant l'ébullition toute perte de vapeur par la tubulure latérale du ballon. Après deux heures de chauffage au bain-marie bouillant la liqueur est additionnée de 45 cm<sup>3</sup> d'eau, chauffée encore pendant un quart d'heure et enfin laissée refroidir. Pour éviter la saponification toujours possible des résines, il serait peut-être utile de réduire un peu la durée de la saponification, mais nous n'avons fait aucun essai dans ce sens. D'autre part, l'alcool amylique, recommandé par certains auteurs comme solvant pour la saponification, nous paraît à rejeter par suite de son point d'ébullition trop élevé (102-148° C).

La solution hydroalcoolique obtenue est transvasée dans une ampoule à décantation de 500 cm<sup>3</sup>. Le ballon est rincé soigneusement avec de l'alcool à 50°. La solution hydroalcoolique est extraite successivement par 100, 50, 40 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole 50-70. L'éther de pétrole tenant en solution l'insaponifiable est lavé avec 50 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse de potasse décimale puis avec 40 cm<sup>3</sup> d'eau. Ces liqueurs de lavage sont jointes à la solution hydroalcoolique de savons.

Les insaponifiables en solution sont finalement recueillis dans un ballon à distiller de 500 cm<sup>3</sup> et l'éther de pétrole distillé sous le vide à 30-35°. L'extrait obtenu est repris par de l'éther de pétrole distillant au-dessous de 50° ajouté par petites fractions en lavant le col et les parois du ballon. La quantité de 10 cm<sup>3</sup> indiquée par BELIN (10) nous a paru assez souvent insuffisante pour dissoudre la totalité de l'insaponifiable. Après repos de 15 à 20 minutes, l'éther de reprise est filtré sur amiante et sable dans un petit cristalliseur à bec préalablement taré. Le ballon et le filtre sont soigneusement lavés avec quelques centimètres cubes d'éther de pétrole qui sont joints à l'éther de reprise dans le cristalliseur. Le cristalliseur est alors placé dans un exsiccateur garni de potasse en plaques où l'on fait le vide. Après évaporation de l'éther de pétrole, le cristalliseur est placé pendant une heure à l'étuve à 50° et pesé après refroidissement. La différence entre la pesée et le poids du cristalliseur vide donne le poids des insaponifiables totaux.

4. — **Dosage des stérols.** — Les insaponifiables totaux ainsi obtenus et pesés sont dissous dans 20 cm<sup>3</sup> d'acétone pur et sec, additionnés de 10 cm<sup>3</sup> d'une solution de digitonoside (digitonine ou digitaléine) de MERCK à 2 p. 100 dans l'alcool à 80°. Le tout est chauffé au bain-marie en évitant l'ébullition jusqu'à réduction de moitié du volume puis abandonné pendant un quart d'heure à la température du laboratoire. Le précipité est séparé sur un filtre DURIEUX III bande bleue préalablement taré et posé sur un entonnoir de JOULIE. Le filtre est lavé 10 fois à l'eau bouillante, 1 fois à l'alcool à 80°, 1 fois à l'acétone, puis encore 1 fois à l'alcool à 80° et enfin 1 fois à l'éther anhydre. Comme le recommandent GIRARDIN et SPACH (105) auteurs de cette technique,

ces filtrations doivent se faire très rapidement en ayant soin de bien couvrir le précipité chaque fois. Après lavages, le filtre est détaché de l'entonnoir, remis dans le pèse-filtres, séché 3 heures à 100° et pesé après refroidissement dans un exsiccateur. Le poids de stérols contenu dans le précipité s'obtient en multipliant le poids de celui-ci par le coefficient 0.25.

5. — **Séparation et dosage des acides gras totaux.** — La solution hydroalcoolique de savons restant après séparation et lavage de la solution d'insaponifiable dans l'éther de pétrole, est additionnée de 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique concentré et extraite par l'éther de pétrole dans les mêmes conditions que pour l'extraction des insaponifiables. La solution d'acides gras obtenue est lavée à l'eau pour enlever les traces d'acide chlorhydrique entraînées, évaporée sous le vide à basse température. L'extrait sec obtenu est repris par de l'éther de pétrole distillant au-dessous de 50°, filtré sur amiante et sable dans un flacon taré de 40 cm<sup>3</sup> environ. La suite des opérations est également identique à celles effectuées pour les insaponifiables.

6. — **Détermination des caractéristiques des acides gras totaux.** — Chaque fois que la quantité d'acides gras obtenue le permet, nous effectuons les déterminations suivantes : point de fusion, poids moléculaire moyen, indice d'iode moyen.

a) *Détermination du point de fusion.* — Après essai de différentes méthodes classiques : tube capillaire, bain de mercure, tube de BENSEMANN, nous nous sommes arrêté à cette dernière qui ne demande que très peu de substance et qui donne avec précision le point de fusion commençante et le point de fusion complète. Le point de fusion commençante est la température pour laquelle la substance commence à couler, le point de fusion complète est la température pour laquelle la substance est devenue transparente. Ces températures se déterminent facilement en assujettissant au réservoir d'un thermomètre un tube étroit possédant une ampoule sur les parois de laquelle se trouve une gouttelette de graisse solidifiée. Le thermomètre et le tube sont placés dans l'eau d'un bécher dont la température est élevée progressivement.

b) *Détermination du poids moléculaire moyen*. — La détermination du poids moléculaire moyen peut se faire par des méthodes physiques (cryoscopie, ébullioscopie, tonométrie) ou par des méthodes chimiques. C'est une de celles-ci que nous avons choisie. Les acides gras totaux fournis par la méthode de KUMAGAWA ne pouvant être que des acides monovalents, leur indice de saponification permet de calculer leur poids moléculaire moyen. En pratique nous opérons de la façon suivante : au moins 0.05 g. d'acides gras sont pesés avec précision dans un petit tube ; le tube est placé dans une fiole conique contenant 10 cm<sup>3</sup> exactement mesurés de potasse alcoolique  $\mathcal{N}$ :2, la fiole conique est chauffée avec un réfrigérant à reflux pendant 30 minutes au bain-marie, en agitant très fortement au début de façon à briser le petit tube ; une fiole témoin garnie également de 10 cm<sup>3</sup> de potasse alcoolique  $\mathcal{N}$ :2 est traitée de la même façon, la potasse de chacune des fioles est titrée par de l'acide chlorhydrique  $\mathcal{N}$ :20 en présence de phénolphthaléine. Si  $v$  est le nombre de cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique correspondant à la potasse employée pour saponifier  $n$  mg. d'acides gras, le poids moléculaire moyen de ces acides est :

$$M = \frac{20 \ n}{v}$$

Dans ces conditions, en supposant, cas le plus défavorable,  $n = 50$  mg. la pesée étant faite à 0,1 mg. près, l'erreur relative sur le numérateur de la fraction est de 0,2 p. 100. D'autre part, on a :

$$v = V_1 - V_2$$

$V_1$  étant le nombre de cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique  $\mathcal{N}$ :20 neutralisant la potasse du flacon témoin, et  $V_2$  étant le nombre correspondant à l'autre flacon. Les 10 cm<sup>3</sup> de potasse sont mesurés à la pipette, et l'erreur qui peut être commise dans de telles conditions est au plus de 0.025 cm<sup>3</sup> soit 0,25 p. 100. La mesure étant faite deux fois et les erreurs pouvant être de sens inverses, l'erreur totale due à la potasse est de 0,5 p. 100 au maximum. L'addition d'acide chlorhydrique se faisant pratiquement en deux fois : d'abord 5 cm<sup>3</sup> d'acide  $\mathcal{N}$ :2 versés à la pipette et ensuite la quantité nécessaire à la neutralisation, soit 50 cm<sup>3</sup> dans le cas de  $V_1$ , 45 cm<sup>3</sup> en moyenne dans le cas de  $V_2$ , d'acide  $\mathcal{N}$ :20 versés à la burette, l'erreur effectuée sur  $V_1$  est au maximum 0,55 p. 100, sur  $V_2$ , 0,56 p. 100. Au total

l'erreur sur  $v$  est au maximum 1,61 p. 100 et sur  $M$  1, 81 p. 100 soit pratiquement 2 p. 100 approximation suffisante.

c) *Détermination de l'indice d'iode moyen.* — Cette détermination a été faite par la méthode classique de WIJS, cependant par suite de la faible quantité de matière sur laquelle nous devons travailler, l'approximation à laquelle nous arrivons n'est pas aussi grande que celle que l'on doit attendre de la méthode. Un calcul analogue à celui que nous venons de faire nous a montré que nos résultats présentaient une approximation de 1 p. 100, ce qui est suffisant pour les études que nous envisageons.

7. — **Dosage du phosphore lipidique.** — L'extrait sec destiné au dosage du phosphore lipidique est repris par l'éther absolu en chauffant légèrement, le ballon étant muni d'un réfrigérant de HOPKINS parfaitement sec. Le ballon toujours muni de son réfrigérant est laissé refroidir et l'éther décanté dans un matras de KJELDHAL. Il est ainsi effectué trois reprises. Il est inutile dans le cas du *Sterigmatocystis* de faire, comme le recommande M. HINGLAIS (134), une reprise benzénique après les reprises éthérées ; nous avons en effet constaté qu'aucun produit gras ne restait dans l'extrait après les reprises éthérées.

L'extrait éthéré ainsi obtenu est évaporé dans le matras de KJELDHAL, puis minéralisé par destruction sulfonitrique. Pour cela, il est additionné de 25 cm<sup>3</sup> d'acide nitrique et laissé digérer pendant 24 heures à la température du laboratoire. Cette opération peut être réduite à une durée de 30 minutes en cas de besoin, en chauffant légèrement jusqu'au moment où l'attaque paraît se ralentir, puis en laissant refroidir. Après l'attaque nitrique, faite à froid ou à chaud, le contenu du matras est additionné de 5 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré et pur. L'attaque se poursuit suivant la technique classique en chauffant doucement jusqu'à décoloration du liquide et émission de vapeurs blanches. L'addition de nouvelles quantités d'acide nitrique est la plupart du temps inutile vu la faible quantité de matière sur laquelle nous opérons habituellement. Lorsque la minéralisation est terminée, le phosphore lipidique est transformé en acide phosphorique, lequel se trouve en solution sulfurique, c'est-à-dire dans des conditions convenables pour le dosage selon COPAUX (50). Des essais préa-

lables de vérification conduits suivant la technique imaginée par A. CREPIN et R. ECHEVIN (72) nous ont montré l'exactitude de la méthode de COPAUX et que la présence de traces d'acide nitrique ne gênait aucunement le dosage.

Le liquide incolore provenant de la destruction est étendu à 50 cm<sup>3</sup>. 10 cm<sup>3</sup> de cette liqueur sont versés dans une ampoule de COPAUX graduée en 1/500 de cm<sup>3</sup> et 10 autres cm<sup>3</sup> dans une ampoule graduée en 1/200 de cm<sup>3</sup>. Ne connaissant pas *a priori* la quantité de phosphore contenue dans la prise d'essai, nous sommes obligé de prévoir le cas évidemment exceptionnel où la graduation des ampoules divisées en 1/500 de cm<sup>3</sup> est dépassée, ce qui se produit, comme l'étalonnage préalable des ampoules l'a montré, pour une quantité de phosphore supérieure à 0,9 mg. Aux 10 cm<sup>3</sup> de liqueur sulfo-phosphorique contenus dans chaque ampoule, on ajoute 10 cm<sup>3</sup> d'eau, ce qui amène la teneur en acide sulfurique à la vapeur indiquée par COPAUX, puis 8 cm<sup>3</sup> d'éther exempt d'alcool, ce qui, pour nos ampoules est une quantité suffisante pour que la couche d'éther surnageant ait 3 ou 4 mm. d'épaisseur, et enfin 15 cm<sup>3</sup> d'une solution de molybdate de soude à 126 p. 1.000, ajoutés par fractions de 3 cm<sup>3</sup>, en agitant énergiquement après chaque affusion. Après un repos de 10 à 15 minutes, les ampoules ainsi garnies sont placées sur une centrifugeuse à main et centrifugées pendant deux minutes. La division d'affleurement du complexe éthéro-phosphomolybdique permet de connaître la quantité de phosphore contenue dans la prise d'essai et par suite dans tout le liquide de destruction, c'est-à-dire le phosphore lipidique d'un mycélium.

8. — **Détermination des acides gras de l'élément constant et des acides gras de l'élément variable.** — En admettant comme le pensent E.-F. TERROINE et ses collaborateurs que tout le phosphore lipidique trouvé est engagé dans la molécule de lécithine, on peut, connaissant le rapport entre le phosphore et les acides gras dans la molécule de ce phosphoaminolipide calculer la quantité d'acides gras de l'élément constant. Cette quantité est égale pratiquement à 15 fois le poids du phosphore lipidique. Par différence avec la quantité d'acides gras totaux on peut calculer la quantité d'acides gras de l'élément variable. Ces valeurs sont des approximations très grossières, mais cependant intéressantes pour l'interprétation de certains résultats.

## IV. — RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

## A. — L'ÉVOLUTION DES LIPIDES EN MILIEU NORMAL.

L'évolution morphologique du *Sterigmatocystis nigra* sur ce milieu est bien connue et nous ne la décrivons pas. Nous signalerons simplement que le sucre est pratiquement disparu du liquide à 72 heures, que les premières conidies apparaissent au bout de 48 heures de culture et que la sporulation est complète après 72 heures. L'acidité actuelle (pH) du liquide augmente jusqu'au début de la sporulation, reste constante pendant toute la durée de celle-ci et diminue ensuite pendant l'autolyse jusqu'à atteindre l'alcalinité au bout d'une semaine.

Les résultats analytiques sont rapportés dans le tableau I et traduits par les graphiques I et II.

TABLEAU I

| Durées de culture....                                       | 48 h.     | 72 h.     | 96 h.     | 168 h.      |
|-------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| pH au moment des récoltes .....                             | 1.6       | 1.6       | 2.4       | 8           |
| Substance sèche d'un mycélium .....                         | 2.744 g.  | 3.229 g.  | 2.151 g.  | 1.491 g     |
| Poids des acides gras totaux.....                           | 0.2140 g. | 0.2683 g. | 0.1002 g. | 0.0836 g.   |
| Points de fusion des acides gras.....                       | 30°5-31°5 | 30°-31°   | 29°5-30°5 | 30°-31°     |
| Poids moléculaires moyens des acides gras .....             | 389       | 297       | 224       | 550         |
| Indices d'iode moyens des acides gras ...                   | 30.8      | 33.4      | 28.5      | 31.1        |
| Poids des insaponifiables totaux ....                       | 0.0238 g. | 0.0262 g. | 0.0284 g. | 0.0868 g.   |
| Poids des stérols, ...                                      | 0.0074 g. | 0.0041 g. | 0.0124 g. | 0.0109 g.   |
| Poids de l'insaponifiable X .....                           | 0.0164 g. | 0.0221 g. | 0.0160 g. | 0.0759 g.   |
| Poids du phosphore lipidique .....                          | 0.0040 g. | 0.0035 g. | 0.0023 g. | traces      |
| Poids des acides gras de l'élément constant (calculé). .... | 0.0600 g. | 0.0525 g. | 0.0345 g. | ≤ 0.0008 g. |
| Poids des acides gras de l'élément variable (calculé) ....  | 0.1541 g. | 0.2158 g. | 0.0657 g. | ≥ 0.0830 g. |

GRAPHIQUE I



On constate que la quantité de substance sèche formée par mycélium, augmente jusqu'à 72 heures, c'est-à-dire tant qu'il existe du sucre dans le liquide. Le maximum de substance sèche formée étant de 3.229 g. En fin d'autolyse, c'est-à-dire au bout d'une semaine de culture, la substance sèche est encore de 1,491 g.

Les acides gras totaux atteignent leur maximum au moment du maximum du développement, c'est-à-dire à la fin de la sporulation. Leur quantité est alors de 0,2683 g. soit 8,3% du poids de la substance sèche. Ils ne paraissent donc pas être utilisés lors de la formation des spores. Ils diminuent ensuite rapidement pendant les premières 24 heures de l'autolyse et très lentement ensuite, pour atteindre, au bout d'une semaine, une proportion de 5,6%.

Au point de vue qualitatif leurs points de fusion présentent peu de variation (de 29°5 à 31°5), le minimum s'observant au début de l'autolyse. Ils présentent une teinte variant du blanc à peine teinté de jaune à la première récolte jusqu'au jaune d'or à la dernière, teinte qui s'atténue par séjour à la lumière.

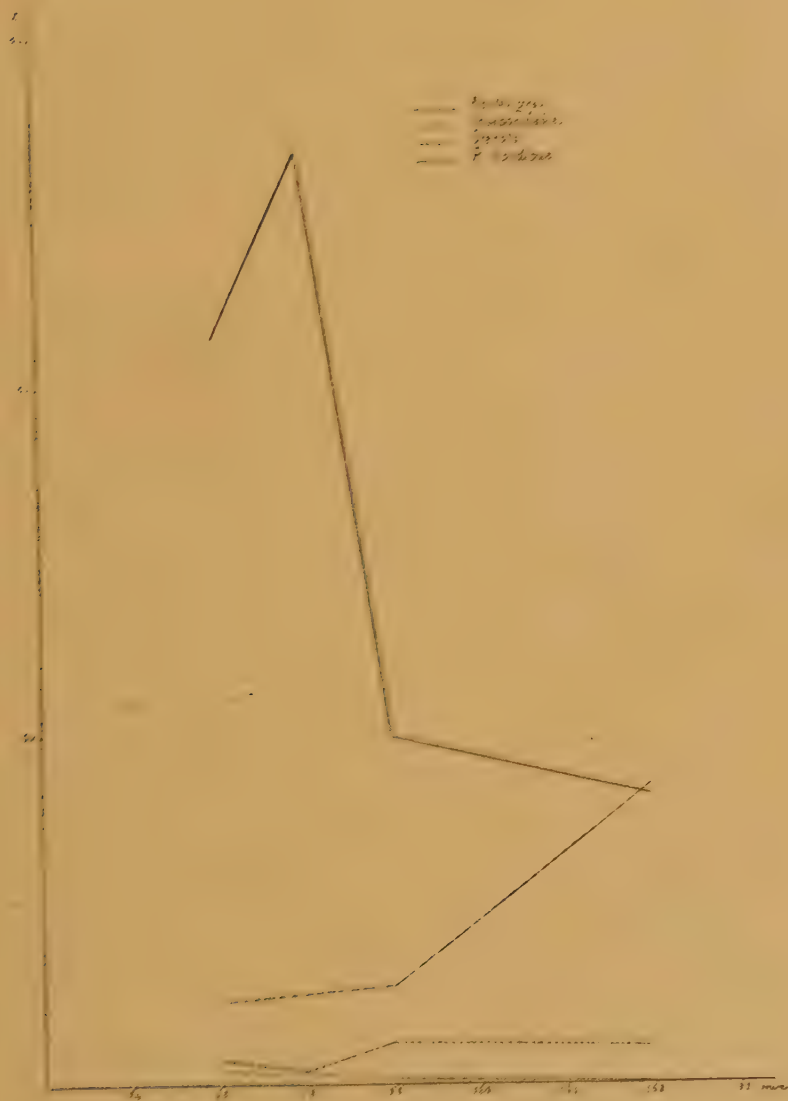
Leurs poids moléculaires moyens diminuent depuis la première récolte, soit 48 heures de culture, jusqu'à l'autolyse. Le poids moléculaire moyen obtenu en fin d'autolyse étant, en effet, manifestement erroné, cette erreur étant due très vraisemblablement à la présence d'une quantité importante d'acides résinologiques. Ceci n'a rien de surprenant, YABUTA (333) a décelé un acide phénolique,  $C_{10}H_8(OH)_4(COOH)_2$  chez *Aspergillus orizae* et chez d'autres espèces voisines, ALSBERG et BLACK (3) ont isolé de deux *Penicillium*, deux acides phénologiques assez mal caractérisés, enfin ZOPF (354) pense que le produit jaune d'or à jaune rouge sécrété par les mycéliums âgés d'*Aspergillus glaucus* appartient aux groupes des résines. Nous (238) avons d'ailleurs signalé déjà l'existence de résines chez le *Sterigmatocystis*. Ces résultats, abstraction faite du dernier, sont en concordance avec ceux de DUBAQUIÉ (70) qui signale la diminution du poids moléculaire moyen des graisses formées pendant la période d'autolyse, ce qui indique la transformation des acides gras à poids moléculaires élevés, en produits à poids moléculaires moins grands. Par contre, nous ne sommes pas d'accord avec DUBAQUIÉ pour ce qui est de la fin de la période de croissance; en effet, pour cette période, DUBAQUIÉ indique une augmentation du poids moléculaire moyen alors que

nous trouvons une diminution de celui-ci. Cette différence, cependant, peut être due uniquement à ce que DUBAQUIÉ utilisait comme milieu de culture le liquide de RAVEN qui est vraisemblablement plus acide que le liquide de MOLLARD, par contre pour cette période de croissance, nous constatons une variation analogue à celle que IVANOW (150) signale pendant la maturation de graines oléagineuses.

Les indices d'iode moyens des acides gras totaux augmentent jusqu'au début de l'autolyse où ils présentent leur valeur maxima et diminuent ensuite ; nous ne pouvons en effet pas tenir compte du dernier résultat qui, pour les raisons que nous avons indiquées, est peut-être erroné. Ici encore nous sommes en opposition avec DUBAQUIÉ qui indique que l'indice d'iode décroît jusqu'au début de l'autolyse et augmente ensuite. Mais par contre nos résultats sont conformes aux observations faites par J. LEMARCHANDS (175) qui, chez *Helianthus*, a trouvé que l'utilisation des acides gras, au cours de la germination de la graine, débutait par l'emploi des acides non saturés ; ceci est également conforme aux remarques de E. F. FERRONNE et ses élèves qui ont noté la plus grande assimilabilité des acides gras à liaison éthylénique ; et d'une façon générale aux observations de SCHMIDT (271), MULLER (203) (204) et IVANOW (151). Les valeurs que nous indiquons pour l'indice d'iode des acides gras totaux diffèrent de celles indiquées par FERRONNE, BONNET, KOPP et VICHOT (308) qui donnent pour valeur moyenne de l'indice d'iode le nombre 85 pour des cultures effectuées à 35-38°, c'est-à-dire à une température un peu plus élevée que celle où nous avons travaillé. Ceci est dû à ce que ces auteurs employaient un milieu de culture plus acide. En effet, nous (240) avons déjà signalé les différences notables de l'indice d'iode des acides gras totaux en fonction de la composition minérale du liquide nutritif. Il est d'ailleurs probable que cette variation de l'indice d'iode en fonction de la composition minérale du milieu affecte les graisses de l'élément variable, cependant ce point reste à vérifier.

Les insaponifiables totaux augmentent régulièrement. Les stéroïls, par contre, présentent une variation assez curieuse. Ils présentent, en effet, leur minimum au moment du maximum de développement et on constate leur augmentation rapide au moment où les acides gras sont utilisés avec la plus grande acti-

GRAPHIQUE II



tivité, si bien que la quantité maxima de stérols correspond au début de l'autolyse ; dans la seconde phase d'autolyse, les stérols sont probablement utilisés car leur quantité diminue un peu. Cette augmentation brusque des stérols au moment de l'utilisation des acides gras apporte une confirmation à la théorie de E.-F. TERROINE qui voit dans les stérols un produit du métabolisme des glycérides. L'insaponifiable X qui comprend vraisemblablement tous les alcools supérieurs autres que les stérols : les lipochromes, les résinotannols et les résènes, présente la quantité maxima au moment du maximum de développement. La chimie des constituants résineux n'étant pas encore assez avancée, il est impossible d'en faire une séparation quantitative et l'interprétation des variations de l'insaponifiable X est assez arbitraire. Par suite de l'augmentation brusque de l'intensité de la teinte jaunâtre des insaponifiables totaux après la sporulation, on peut admettre que la quantité de lipochromes augmente rapidement à ce moment. En considérant que, entre 72 et 96 heures, c'est-à-dire au moment de cette augmentation de lipochromes, la quantité d'insaponifiable X diminue, on doit conclure à une utilisation rapide d'autres constituants, probablement des alcools gras supérieurs, les composés résineux s'accumulant au contraire au cours de l'autolyse ainsi que l'indique la valeur de l'insaponifiable X pour la dernière récolte. Au total il faudra distinguer dans l'insaponifiable X un groupe de substances incolores qui subit une variation parallèle à celle des acides gras et un groupe de substances colorées en jaune comprenant entre autres les lipochromes et les constituants résineux qui augmente continuellement.

Le poids du phosphore lipidique présente son maximum un peu avant le maximum de développement. Il varie peu jusqu'au début de l'autolyse puis diminue régulièrement. Ceci nous indique que les acides gras de l'élément constant diminuent lentement de 48 à 72 heures et plus rapidement ensuite, ce qui fait que la variation signalée pour les acides gras totaux a une amplitude plus considérable encore en ce qui concerne les acides gras de l'élément variable. Il serait intéressant de comparer la variation du phosphore lipidique avec celle de l'azote protidique qui doit être sensiblement parallèle, malheureusement nous ne connaissons aucun résultat analytique se rapportant à cette dernière sur le liquide de MOLLIARD.

Nous sommes cependant en droit de supposer que, jusqu'à 48 heures, maximum du phosphore lipidique, la quantité de substance vivante augmente, puisqu'elle diminue de 48 à 72 heures bien que la substance inerte, les membranes, par exemple, continue à augmenter. La formation des appareils conidiens serait donc accompagnée d'une migration de la substance vivante vers ces éléments néoformés et d'une utilisation de celle-ci. Pendant l'autolyse la substance vivante diminue, son utilisation étant accompagnée de formation d'ammoniaque qui neutralise l'acidité et amène même la réaction jusqu'à l'alcalinité en fin d'autolyse, la substance sèche étant alors formée presque exclusivement de substances inertes.

## B. — L'ÉVOLUTION DES LIPIDES EN MILIEU A TENDANCE A L'ACIDITÉ.

L'étude du chimisme du *Sterigmatocystis nigra* sur ce milieu a été faite par M. MOLLIARD (208) (209) au point de vue de la teneur en cendres, de la composition de celles-ci, de l'intensité et du quotient respiratoire et par F. OBATON (227) en ce qui concerne le d-hexanhexol 1122 (mannite). Sur ce liquide, la végétation du *Sterigmatocystis* est un peu ralentie et particulièrement la phase d'autolyse ; cependant le poids de la substance sèche formée est sensiblement le même qu'en milieu normal. L'utilisation du sucre est sensiblement la même que dans le milieu normal, seule l'acidité actuelle atteint une valeur beaucoup plus considérable qui est due à la libération d'acide chlorhydrique. Le pH qui était initialement de 4,5 passe en effet à 1,7 à 48 heures, 1,2 à 72 heures, 0,9 à 96 heures ; à 168 heures, par suite de la coloration intense du liquide, l'acidité actuelle n'a pas pu être mesurée par colorimétrie.

Le tableau II indique les résultats analytiques rapportés à un mycélium. Ces résultats sont traduits par les graphiques III et IV.

La quantité des acides gras totaux augmente régulièrement jusqu'à 72 heures et diminue tout aussi régulièrement après ; le ralentissement de leur utilisation au cours de l'autolyse est particulièrement notable. En valeur absolue la quantité formée est plus faible qu'en milieu normal 0,1660 g. contre 0,2683 g.

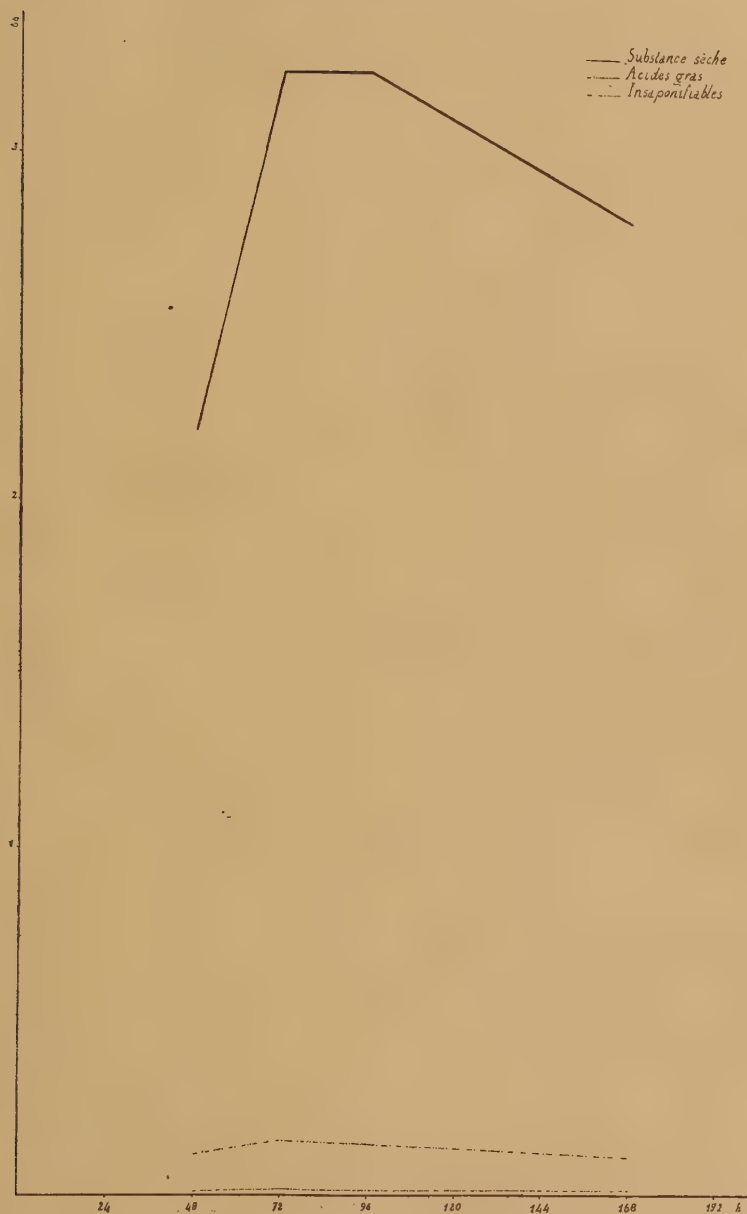
au maximum, à 72 heures. Rapporté au poids de la substance sèche qui est sensiblement la même dans les deux cas, le taux des acides gras totaux formé est, à 72 heures, 5,1% en milieu à tendance acide contre, 8,3% en milieu normal. On pourrait évidemment expliquer ces faits, déjà signalés par DUBAQUIÉ (70) par le ralentissement général du métabolisme dans les cultures en présence d'un acide, mais si l'on considère que la quantité de substance sèche formée est sensiblement la même qu'en milieu

TABLEAU II

| Durées de culture ...                                      | 48 h.     | 72 h.     | 96 h.     | 168 h.    |
|------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH au moment des récoltes .....                            | 1.7       | 1.2       | 0.9       | —         |
| Substance sèche d'un mycélium .....                        | 2.203 g.  | 3.236 g.  | 3.237 g.  | 2.799 g.  |
| Poids des acides gras totaux.....                          | 0.1221 g. | 0.1660 g. | 0.1512 g. | 0.1114 g. |
| Points de fusion des acides gras.....                      | 36°-37°   | 36°-38°   | 34°-35°   | 33°-35°   |
| Poids moléculaires moyens des acides gras .....            | 225       | 278       | 321       | 237       |
| Indices d'iode moyens des acides gras ...                  | 54.7      | 67.7      | 85.8      | 87.4      |
| Poids des insaponifiables totaux ...                       | 0.0176 g. | 0.0205 g. | 0.0195 g. | 0.0175 g. |
| Poids des stérols....                                      | 0.0074 g. | 0.0084 g. | 0.0062 g. | 0.0055 g. |
| Poids de l'insaponifiable X.....                           | 0.0102 g. | 0.0121 g. | 0.0133 g. | 0.0120 g. |
| Poids du phosphore lipidique.....                          | 0.0025 g. | 0.0026 g. | 0.0018 g. | 0.0004 g. |
| Poids des acides gras de l'élément constant (calculé)..... | 0.0375 g. | 0.0390 g. | 0.0270 g. | 0.0060 g. |
| Poids des acides gras de l'élément variable (calculé)...   | 0.0846 g. | 0.1270 g. | 0.1242 g. | 0.1054 g. |

normal, on est obligé d'admettre un ralentissement du seul métabolisme lipidique. Les deux phases du métabolisme lipidique subissent ce ralentissement : la lipogénèse est moins active et la lipolyse est très lente. Considérons cette dernière phase qui est en général mieux connue que la première. Son ralentissement s'explique par l'acidité qui peut agir, soit directement soit indirectement, très probablement des deux façons à la fois. R. SCHENKER (268) a, en effet, montré que la présence d'acides, il est vrai organiques,

GRAPHIQUE III



ralentissait l'action lipolytique de la lipase extraite du *Sterigmatocystis nigra* et que ce ralentissement était d'autant plus marqué que le coefficient de dissociation de l'acide était plus élevé ; IURACEC (148) (149) précisant et généralisant l'étude de l'influence de la réaction du milieu a indiqué récemment que le pH optimum pour l'activité de la lipase du *Sterigmatocystis nigra* est égal à 7.8 et que l'activité de la lipase décroît rapidement avec l'acidité. D'autre part, J. LEMARCHANDS (175), en 1919, par l'étude soigneuse du chimisme de la germination de graines oléagineuses, a montré le rôle favorisant des phosphates acides et des sels de magnésium sur l'activité lipasique. Or A. CREPIN (56) a trouvé que la quantité de phosphore contenu dans les mycéliums cultivés sur milieu à tendance acide était beaucoup plus faible que sur un milieu se rapprochant beaucoup de notre milieu normal ; ce même chercheur arrive à des résultats analogues quant au magnésium ; par suite, l'acidité peut agir indirectement en modifiant l'absorption minérale. Pour la lipogénèse, il est rationnel d'admettre que les causes freinant l'action analysante de la lipase, agissent dans le même sens pour son action synthétisante. La seule objection sérieuse qui puisse être soulevée à l'égard de ces explications, est que nous raisonnons sur les acides gras totaux comme s'ils correspondaient à des glycérides neutres, ce que nous ne pouvons évidemment pas prouver, et ce qui peut sembler erroné à la suite des travaux de ZELLNER ; cependant ce chimiste qui a analysé du matériel sec, vieux la plupart du temps de huit semaines, a indiqué lui-même que l'indice d'acide des graisses des Champignons augmentait avec le temps et par la dessiccation ; cette objection n'est donc pas aussi fondée qu'elle pouvait le paraître *a priori*. Le ralentissement du métabolisme des lipides en milieu à tendance acide semble donc dû à l'acidité qui se développe dans ce milieu et qui, directement ou indirectement, gêne les actions diastasiques. Ce raisonnement n'est nullement en contradiction avec les résultats apportés par FLIEG (83) : en effet celui-ci a considéré une acidité phosphorique constante et a alors constaté que l'acidité favorisait l'activité lipasique au début des cultures ; nous avons produit dans notre milieu une acidité chlorhydrique croissante, nous ne sommes donc pas dans les mêmes conditions.

Au point de vue qualitatif, les acides gras formés présentent,

à partir de 72 heures, une teinte jaune d'autant plus foncée qu'ils proviennent de mycéliums plus âgés. Cette teinte est un peu plus intense que celle présentée par les acides gras correspondants provenant des cultures sur milieu normal, mais elle s'atténue également avec le temps.

Les points de fusion des acides gras totaux formés sur milieu à tendance acide varient entre 33 à 38° C. Jusqu'à 72 heures, ce point de fusion est plus élevé que la température à laquelle est effectuée la culture ; pendant l'autolyse il est au contraire sensiblement égal à celle-ci.

Les poids moléculaires moyens des acides gras totaux augmentent jusqu'au début de l'autolyse pour diminuer pendant celle-ci et revenir au voisinage de leur valeur primitive : ils passent de 225 (48 heures) à 321 (96 heures) pour revenir ensuite à 237 (168 heures). En moyenne (275) ils sont un peu plus faibles que ceux trouvés pour les acides gras totaux en milieu normal (300). La variation des poids moléculaires moyens se rapproche de celle indiquée par DUBAQUIÉ, et la valeur moyenne des poids moléculaires que nous trouvons, se rapproche également de celle que l'on peut calculer à l'aide des données de DUBAQUIÉ (indice de neutralisation des acides 193, poids moléculaire moyen correspondant 270). Ceci confirme donc notre supposition quant à la réaction du liquide de RAULIN.

Les indices d'iode des acides gras totaux formés, augmentent depuis la valeur 54,7 à 48 heures jusqu'à la valeur 87,4 au bout de 8 jours. L'augmentation est surtout rapide jusqu'au début de l'autolyse et est à peine sensible, au contraire, pendant celle-ci. Ces résultats nous conduisent à admettre que la formation des acides gras saturés se produit moins vite ou est moins importante qu'en milieu normal. Les valeurs moyennes obtenues pour l'indice d'iode des acides gras formés dans ce milieu se rapprochent de celles obtenues par TERROINE et BELIN (304) sur un milieu constitué par la constante saline de CZAPEK additionnée de glucose et d'acide sulfurique ; elles se rapprochent également de celles indiquées par DUBAQUIÉ.

L'insaponifiable X varie relativement peu et sa quantité est moins élevée qu'en milieu normal. Comme la coloration des insaponifiables totaux devient surtout intense après 72 heures,

on peut conclure que les constituants incolores (alcools supérieurs) de l'insaponifiable X suivent une variation parallèle à celle des acides gras totaux alors que les constituants colorés (résinotannols, résènes, lipochromes) augmentent continuellement à partir du maximum de développement. Les quantités de stérols augmentent

GRAPHIQUE IV



jusqu'à 72 heures pour diminuer ensuite d'autant moins rapidement que l'autolyse est plus avancée. Elles sont plus faibles en moyenne qu'en milieu normal, ce qui est en relation avec l'utilisation moins active des acides gras.

Le phosphore lipidique atteint presque sa valeur maxima à 48 heures ; à 72 heures la quantité de phosphore lipidique représente 0,080% du poids de la substance sèche formée, elle se rapproche

de la valeur indiquée par A. HÉE (0,073) qui a effectué ces cultures sur constante saline de CZAPEK additionnée d'acide sulfurique ; ceci semble indiquer que dans ce milieu de culture, utilisé également par TERROINE et ses élèves, l'acide sulfurique surajouté pour amener le pH initial aux environs de 5 n'est pas utilisé par le mycélium et se comporte comme l'acide chlorhydrique qui se forme dans nos cultures sur milieu au chlorhydrate d'ammoniaque. La variation de la quantité de phosphore lipidique nous permet d'apprécier l'ordre de grandeur de la quantité des acides gras de l'élément constant et par différence avec la quantité des acides gras totaux, celles des acides gras de l'élément variable. On constate alors que ces derniers diminuent extrêmement lentement au cours de l'autolyse et qu'il en reste encore au bout de huit jours une quantité très notable formant près de 4% de la substance sèche du mycélium.

En résumé, en milieu à tendance acide, les acides gras totaux formés sont toujours en quantités inférieures à celles du milieu normal, leur utilisation est plus lente, leur point de fusion un peu plus élevé ainsi que leurs indices d'iode, cependant leurs poids moléculaires moyens restent comparables ; l'insaponifiable X est en quantité moindre qu'en milieu normal, de même que les stérols ; le phosphore lipidique existe aussi en moins grande abondance. Ces résultats confirment le ralentissement du métabolisme que l'on doit rapporter à une déviation du chimisme due à l'acidité actuelle considérable qu'atteint le liquide nutritif pendant la phase de croissance du mycélium.

### C. — L'ÉVOLUTION DES LIPIDES EN MILIEU A TENDANCE ALCALINE.

M. MOLLIARD (207) (209) a étudié l'action de ce milieu sur le *Sterigmatocystis nigra* au point de vue de la formation de l'acide oxalique et du phénomène respiratoire. Nous rappellerons que dans ce milieu le Champignon forme, en quantité très notable, des acides organiques qui tendent à neutraliser le potassium libéré par l'utilisation de l'anion nitrique du nitrate. BRETIN, P. MANCEAU et REY (35) ont étudié l'action d'un excès de nitrate de potassium sur le *Penicillium glaucum*. Ils montrent que l'absorption du po-

tassium croît avec la concentration du liquide en nitrate et nous sommes en droit de penser qu'il en est de même pour le *Sterigmatocystis* ; aussi l'excès de potassium n'entraîne-t-il pas une déviation aussi considérable du métabolisme glucidique qu'on pourrait le supposer, ou, autrement dit, la quantité d'acides organiques excrétée par le mycélium n'est pas aussi considérable que l'excès de potassium du milieu de culture peut le faire prévoir.

Sur le liquide nutritif au nitrate de potassium le mycélium se présente au bout de 48 heures sous l'aspect d'un voile continu blanc velouté à la partie supérieure avec parfois, mais rarement, quelques conidies noires ; le pH du liquide nutritif est alors égal à 4.9. Au bout de 72 heures de culture, les mycéliums sont épais, coriaces, et présentent un aspect velouté blanc, taché de quelques conidies verdâtres au centre ; le pH est alors égal à 5. Au quatrième jour les mycéliums épais et coriaces ont toujours un aspect velouté mais la teinte est passée au gris jaunâtre ou au brun verdâtre par suite de la formation des conidies, celles-ci présentent une teinte tirant sur le vert et elles ne sont noires que sur les bords, le pH du liquide est encore égal à 5. Au bout d'une semaine les mycéliums sont devenus mous, ils sont complètement recouverts de conidies brun verdâtre dont les spores germent sur les gouttelettes de liquide noirâtre exsudant du mycélium, le liquide nutritif coloré en brun très foncé ne permet pas de détermination colorimétrique de l'acidité actuelle.

Les poids de substance sèche formée (tableau III, graphiques V et VI) augmentent jusqu'à 96 heures, cependant l'augmentation est surtout rapide jusqu'à 72 heures. Les quantités de substance sèche sont inférieures à celles que l'on trouve dans le milieu normal, sauf en fin d'autolyse où les quantités deviennent comparables. Ce retard de la croissance s'explique facilement : M. MOLLIARD (209) signale, en effet, que l'utilisation du sucre sur ce milieu est très lente et que, contrairement à ce qui se passe dans les autres milieux, la disparition du sucre ne se produit qu'entre le troisième et le quatrième jour de culture.

La formation des acides gras totaux, d'abord plus lente qu'en milieu normal, devient assez rapide entre 48 et 72 heures : à ce moment la quantité formée atteint son maximum avec une valeur comparable à celle du milieu normal. Cependant, si l'on tient

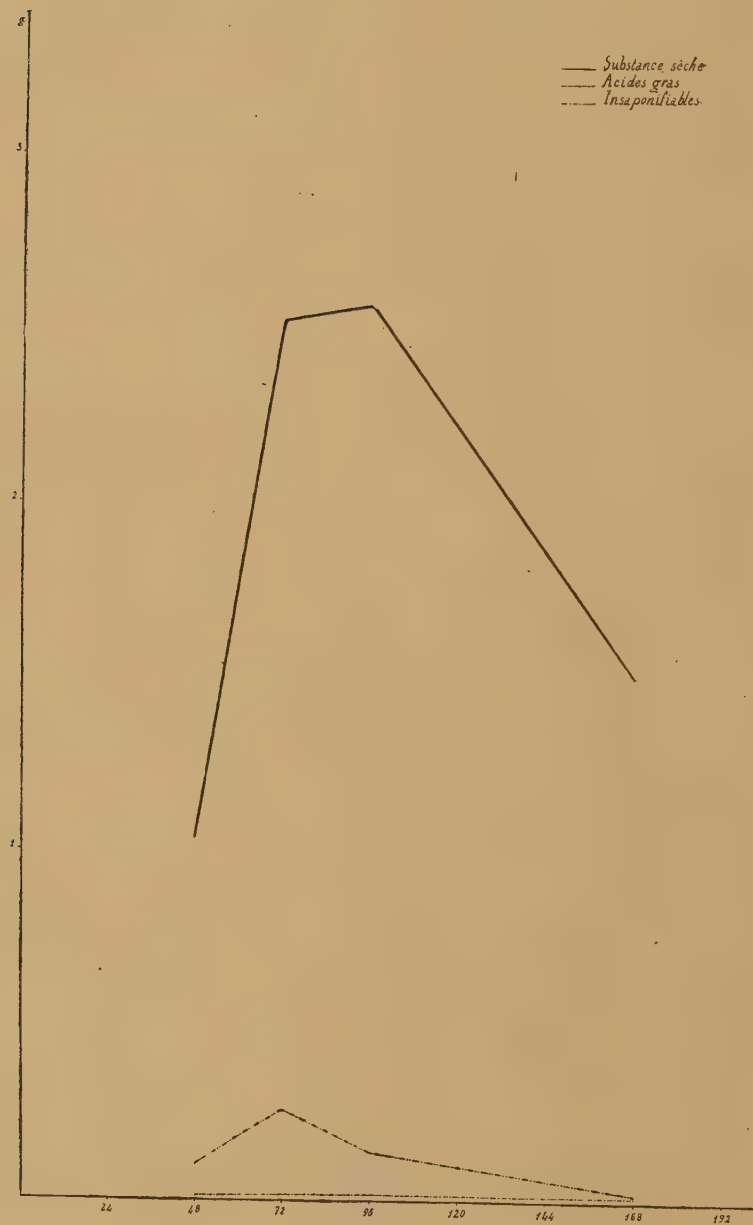
compte du poids de substance sèche plus faible, la proportion des acides gras dans le mycélium est plus grande : 10.6% contre 8.3%. L'utilisation des acides gras totaux formés, d'abord plus lente qu'en milieu normal, ce qui s'explique facilement en remarquant que la sporulation n'est complète qu'au quatrième jour de végétation, s'accélère au cours de l'autolyse : il ne reste pour ainsi dire plus d'acides gras au bout de huit jours.

TABLEAU III

| Durées de culture...                                      | 48 h.     | 72 h.     | 96 h.     | 168 h.    |
|-----------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH au moment des récoltes.....                            | 4.9       | 5.0       | 5.0       | —         |
| Substance sèche d'un mycélium .....                       | 1.040 g.  | 2.520 g.  | 2.565 g.  | 1.409 g.  |
| Poids des acides gras totaux.....                         | 0.1029 g. | 0.2670 g. | 0.1465 g. | 0.0256 g. |
| Points de fusion des acides gras totaux                   | 33°-35°5  | 31°-35°   | 31°-34°   | 32°5-35°5 |
| Poids moléculaires moyens des acides gras totaux.....     | 274       | 264       | 240       | —         |
| Indices d'iode moyens des acides gras....                 | 96.7      | 80.2      | 88.2      | 91.8      |
| Poids des insaponifiables totaux....                      | 0.0121 g. | 0.0158 g. | 0.0179 g. | 0.0186 g. |
| Poids des stérols....                                     | 0.0045 g. | 0.0045 g. | 0.0090 g. | 0.0106 g. |
| Poids de l'insaponifiable X .....                         | 0.0076 g. | 0.0113 g. | 0.0089 g. | 0.0080 g. |
| Poids du phosphore lipidique .....                        | 0.0014 g. | 0.0029 g. | 0.0027 g. | traces    |
| Poids des acides gras de l'élément constant (calculé).... | 0.0210 g. | 0.0435 g. | 0.0405 g. | 0.0008 g. |
| Poids des acides gras de l'élément variable (calculé)...  | 0.0819 g. | 0.2235 g. | 0.1060 g. | 0.0249 g. |

Au point de vue qualitatif, les acides gras totaux formés présentent une teinte variant du blanc à peine jaunâtre à 48 heures au jaune d'or foncé à 168 heures. Leurs points de fusion sont comparables : fusion commençante comprise entre 31 et 33° C, fusion complète entre 34 et 35°5, les points de fusion les plus bas s'observent pendant la sporulation. De même que les points de fusion étaient très voisins, les poids moléculaires moyens des acides gras formés sont également assez voisins, ils sont en moyenne plus faibles que dans les autres milieux et présentent leur minimum

GRAPHIQUE V



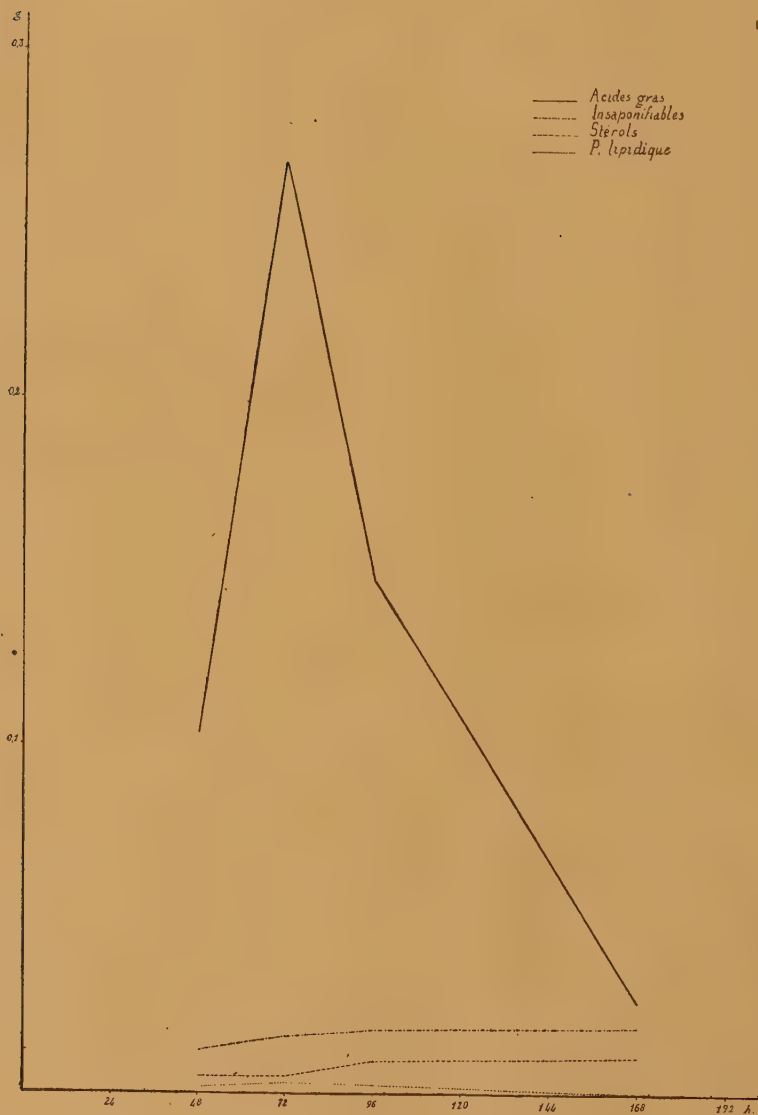
pendant la sporulation. Par suite de la quantité trop faible d'acides gras provenant de la dernière récolte, le poids moléculaire de ceux-ci n'a pas été déterminé, l'approximation à laquelle nous serions arrivés étant tout-à-fait insuffisante. Les indices d'iode moyens sont également du même ordre de grandeur et voisin de 90 ; l'indice d'iode le plus bas se trouve au début de la sporulation. Nous constatons nettement, dans cette variation de l'indice d'iode la formation, au début de la culture, d'acides non saturés qui, petit à petit, font place à des acides plus saturés au fur et à mesure que le mycélium s'adapte au milieu et que le développement se produit ; d'autre part, au cours de l'autolyse, nous constatons nettement, l'apparition d'acides gras moins saturés qui ne peuvent provenir que de l'apparition de liaisons éthyléniques nouvelles.

La variation de l'insaponifiable X est comparable à celle qui se produit dans les autres milieux bien que sa quantité soit toujours assez faible. Comme les constituants colorés apparaissent à 72 heures et augmentent continuellement ensuite, on peut admettre que les constituants incolores subissent une utilisation extrêmement active pendant la sporulation et une utilisation moins active pendant la fin de l'autolyse.

Les stérols restent en quantité assez faible pendant toute la première partie de la végétation ; ils augmentent brusquement entre 78 et 96 heures, c'est-à-dire pendant la sporulation, et leur augmentation est plus lente ensuite pendant l'autolyse. Cette brusque augmentation pendant la sporulation correspond à l'utilisation extrêmement rapide des acides gras pendant cette période de la végétation, ce qui confirme le point de vue de TERROINE, BONNET, KOPP et VÉCHOT (309) sur le mécanisme de formation des stérols. Leur augmentation pendant l'autolyse ne correspond pas exactement en importance à l'utilisation des acides gras, on doit donc admettre, pendant cette période, leur emploi, tout au moins partiel par le mycélium.

Le phosphore lipidique, en quantité assez faible, augmente jusqu'au début de la sporulation parallèlement au poids de la substance sèche. Sa quantité varie peu pendant la sporulation et diminue pendant l'autolyse. En tenant compte du poids de la substance sèche formée par le mycélium, sa proportion est assez élevée : 0,113% à 72 heures. Nous sommes donc conduits à admettre

GRAPHIQUE VI



que, jusqu'à ce moment, le mycélium forme surtout de la matière vivante, alors que l'augmentation du poids de substance sèche constatée pendant la sporulation correspond à une migration de la substance vivante dans les organes de néoformation. La quantité de phosphore lipidique nous permet, comme précédemment de déterminer, par le calcul, le poids des acides gras de l'élément constant et celui des acides gras de l'élément variable. On constate que la variation de ce dernier est sensiblement parallèle à celle du poids des acides gras totaux.

En résumé, dans le milieu à tendance alcaline, le ralentissement du métabolisme dû à la libération du cation potassium pendant la phase de croissance du mycélium, se traduit par un ralentissement de la lipogénèse sans que, cependant, la quantité maxima de lipides formés soit diminuée. La déviation du métabolisme porterait donc surtout sur les protides et les glucides. Il aurait été intéressant de rechercher dans ce milieu ce qui revient à l'excès de potassium et ce qui revient à la réaction. Pour cela il aurait été utile de faire une série de cultures sur un milieu au nitrate de sodium : *a priori* on peut penser en effet que, dans ce milieu, la réaction doit être sensiblement la même qu'en milieu au nitrate de potassium et que, par suite, les variations différentielles entre ces deux milieux doivent se rapporter à la nature des cations en excès. L'étude du milieu suivant permettra cependant de nous orienter dans ce sens.

#### D. — L'ÉVOLUTION DES LIPIDES EN MILIEU TAMPON.

Le milieu tampon ou milieu normal additionné de carbonate de calcium va se comporter dans une certaine mesure, comme le milieu à tendance alcaline : le *Sterigmatocystis* va sécréter de l'acide oxalique tendant à neutraliser le carbonate de calcium, mais alors que, dans le milieu à tendance alcaline, le potassium en excès pouvait être considéré comme un aliment pour le Champignon, le calcium surajouté ici n'est pas un élément nécessaire ; aussi doit-on s'attendre à trouver une déviation du chimisme due à la réaction du milieu d'une part et à l'action propre du calcium d'autre part.

F. OBATON (227) qui a étudié l'évolution du d-hexanhexol chez le *Sterigmatocystis* cultivé sur ce milieu, indique les caractéristiques de la végétation que nous rappellerons en les complétant : à 48 heures, les mycéliums forment des voiles continus, plissés, veloutés superficiellement, relativement assez minces, sur le liquide déjà assez coloré en jaune. A 72 heures, les mycéliums forment une croûte épaisse, coriace, veloutée superficiellement, de teinte jaune à jaune verdâtre avec de nombreux bouquets de conidies noires sur les bords et de place en place ; le quatrième jour les mycéliums sont complètement recouverts de conidies noires ou brun verdâtre, enfin au cours de l'autolyse des gouttelettes brunes exsudent du mycélium et tendent à l'immerger. Pendant toute la durée de la végétation, le pH oscille entre 6.2 et 6.4. Le sucre est pratiquement disparu au bout de 72 heures de culture et il ne semble pas qu'il y ait de ralentissement notable dans son utilisation ; le ralentissement du métabolisme des sucres constaté par P. MANCEAU (193) chez le *Penicillium glaucum* en présence de chlorure de calcium semblerait donc plutôt dû à l'union chlorhydrique qu'au cation calcium. Nous ne pouvons cependant pas affirmer que le ralentissement du métabolisme des sucres en milieu à tendance alcaline soit dû plus au potassium qu'à la réaction, car il n'y a pas parallélisme entre les variations de la réaction dans ces deux milieux.

Les poids de substance sèche formée (tableau IV, graphiques VII et VIII) varient d'une manière assez semblable à celle du milieu normal, avec cependant un léger décalage dans le sens des poids plus grands. Ce fait, déjà constaté par Th. ROBERT (259) (260) (261), a été expliqué par la fixation d'oxalate de calcium sur le mycélium.

Les poids des acides gras totaux formés augmentent jusqu'au début de la sporulation et diminuent ensuite, ils sont toujours plus faibles que dans les mycéliums cultivés sur liquide normal : 6.4% au maximum contre 8.3%. Ceci peut s'expliquer ou bien en admettant qu'une partie de l'aliment carboné sert à fabriquer de l'acide oxalique saturant le calcium, ou bien en admettant que les graisses formées en quantité normale sont en partie utilisées, au fur et à mesure de leur formation, pour l'élaboration de l'acide oxalique, cette dernière hypothèse étant évidemment seule valable

pour la phase d'autolyse. Sans reprendre une conclusion de WEHMER (325), nous rappellerons que récemment WALKER et COPPOCK (322) ont montré d'une façon indubitable la formation d'acide oxalique dans la dégradation de l'acide propionique par le *Sterigmatocystis*.

TABLEAU IV

| Durées de culture...                                      | 48 h.     | 72 h.     | 96 h.     | 168 h.    |
|-----------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH au moment des récoltes.....                            | 6.2       | 6.4       | 6.4       | 6.2       |
| Substance sèche d'un mycélium .....                       | 2.637 g.  | 3.276 g.  | 2.870 g.  | 1.856 g.  |
| Poids des acides gras totaux.....                         | 0.0983 g. | 0.2100 g. | 0.0770 g. | 0.0077 g. |
| Points de fusion des acides gras totaux.                  | 33°-34°   | 31°-32°   | 30°5-31°5 | 31°-32°   |
| Poids moléculaires moyens des acides gras totaux.....     | 289       | 299       | 315       | —         |
| Indices d'iode moyens des acides gras...                  | 67.7      | 74.0      | 72.3      | —         |
| Poids des insaponifiables totaux....                      | 0.0128 g. | 0.1050 g. | 0.0275 g. | 0.0289 g. |
| Poids des stérols....                                     | 0.0035 g. | 0.0119 g. | 0.0100 g. | 0.0138 g. |
| Poids de l'insaponifiable X.....                          | 0.0093 g. | 0.0831 g. | 0.0175 g. | 0.0151 g. |
| Poids du phosphore lipidique.....                         | 0.0028 g. | 0.0031 b. | 0.0022 g. | 0.0003 g. |
| Poids des acides gras de l'élément constant (calculé).... | 0.0420 g. | 0.0465 g. | 0.0330 g. | 0.0045 g. |
| Poids des acides gras de l'élément variable (calculé).... | 0.0563 g. | 0.1635 g. | 0.0440 g. | 0.0032 g. |

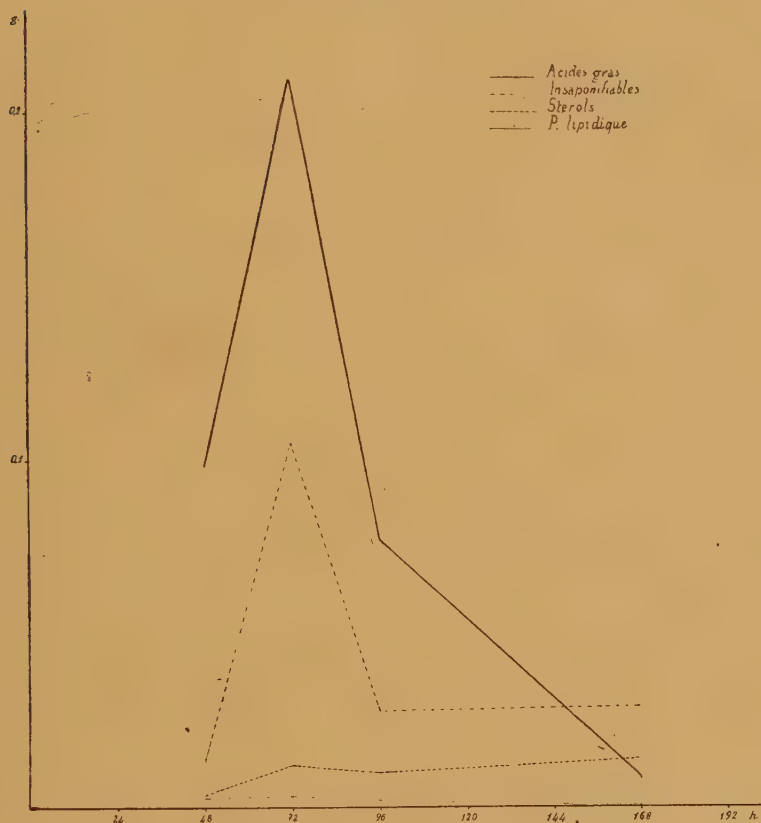
Au point de vue qualitatif les acides gras totaux formés sont comparables à ceux qui se forment sur milieu à tendance alcaline, en ce qui concerne la coloration. Leurs points de fusion, se rapprochant de ceux des acides gras obtenus en milieu à tendance alcaline, puis, pendant la sporulation et l'autolyse, sont intermédiaires entre ceux des acides gras obtenus en milieu normal et ceux des acides trouvés en milieu à tendance alcaline. Leurs poids moléculaires et leurs indices d'iode sont en moyenne intermédiaires entre ceux des acides gras obtenus en milieu à tendance alcaline et ceux correspondants en milieu normal. L'augmentation continue des poids moléculaires moyens laisse penser que les acides

GRAPHIQUE VII



à faibles poids moléculaires sont plus rapidement utilisés et cela dès le début de la culture. La variation de la valeur des indices d'iode est sensiblement parallèle à la variation correspondante en milieu normal.

GRAPHIQUE VIII



L'insaponifiable X présente une variation de très grande amplitude : sa quantité, plutôt faible à 48 heures, augmente brusquement à 72 heures pour diminuer non moins brusquement pendant la sporulation, au cours de l'autolyse la diminution étant relativement faible. Ce sont surtout les constituants incolores de l'insaponifiable X qui subissent cette variation, car les cons-

tituants colorés semblent augmenter continuellement depuis le début de la culture autant qu'il soit possible d'en juger d'après l'intensité de la coloration des insaponifiables totaux.

Les quantités de stérols suivent en première approximation une variation inverse de celle des acides gras; cependant au cours de l'autolyse la formation des stérols est presque compensée par leur utilisation. Les quantités sont toujours très élevées, ce qui permet de penser comme nous l'indiquons plus haut qu'une partie des acides gras formés est dégradée par le Champignon au fur et à mesure de son apparition pour saturer le calcium du carbonate ajouté au liquide nutritif.

La quantité de phosphore lipidique contenue dans le mycélium à 48 heures est assez faible, intermédiaire entre celles que l'on trouve en milieu alcalin et en milieu normal. Elle augmente ensuite un peu pendant la fin de la croissance et diminue ensuite assez rapidement pendant la sporulation, puis plus lentement pendant l'autolyse finale. La variation du poids des acides gras de l'élément variable que nous pouvons en déduire est homologue de la variation du poids des acides gras totaux.

En résumé, dans le milieu tampon, le métabolisme des lipides est profondément modifié. L'anabolisme des lipides est modifié par la réaction du milieu : les caractéristiques des acides gras totaux pendant la période de croissance se rapprochant de celles qui ont été trouvées en milieu à tendance alcaline. Par contre le catabolisme semble surtout modifié par la présence du cation calcium qui l'accélère; il en résulte en particulier une quantité extraordinairement élevée de stérols. Cette accélération du catabolisme semble ne se rencontrer que sur les lipides car la quantité de matière vivante, autant qu'il soit permis d'en juger d'après la valeur de la qualité de phosphore lipidique, diminue d'une façon relativement lente pendant l'autolyse. En comparant les résultats obtenus dans ce milieu avec ceux que nous avons indiqués pour le milieu à tendance alcaline, nous pouvons supposer que la réaction actuelle influe surtout sur l'anabolisme des lipides alors que la nature du cation ajouté pour créer cette réaction influe sur le catabolisme, la réaction ayant une influence surtout qualitative et le cation une influence quantitative.

### E. — L'ÉVOLUTION DES LIPIDES EN MILIEU DÉSÉQUILIBRÉ PAR DÉFAUT DE POTASSIUM.

Nous nous étions primitivement proposé de faire une étude identique à celles que nous avons précédemment rapportées sur un milieu qui différerait du milieu normal par absence de potassium, toutes conditions égales d'ailleurs. M. MOLLIARD et H. COUPIN (216) (217) avaient constaté des modifications profondes de la morphologie du *Sterigmatocystis nigra* sur milieu sans potassium. A. FREY (89) a étudié l'effet d'une carence en potassium sur la formation des cellules géantes, mais ses résultats ont été mis en doute par T. SAKAMURA (267). Quoi qu'il en soit, il résulte de tous ces travaux que la carence en potassium produit des modifications morphologiques profondes. D'autre part, M. MOLLIARD (210) (211) (213) (214) (215) a montré l'importance du potassium tant pour l'apparition des conidies que pour la formation des acides organiques. Il était donc intéressant de rechercher, après avoir vu l'action d'un excès de potassium qui tendait à rendre le milieu alcalin, sans y parvenir d'ailleurs, le résultat d'un défaut de cet élément en ce qui concerne les lipides, pour chercher à compléter les renseignements que nous possédions déjà sur le rôle des cations dans le métabolisme des lipides.

Pour orienter nos recherches nous avons d'abord effectué une série de cultures sur le milieu suivant ne contenant de potassium que les traces qui pouvaient être apportées comme impuretés par les produits purs du commerce employés :

|                                       |                                 |
|---------------------------------------|---------------------------------|
| Phosphate bibasique d'ammonium ...    | 0,921 g.                        |
| Nitrate d'ammonium.....               | 3,001 g.                        |
| Sulfate de magnésium cristallisé..... | 0,407 g.                        |
| Sulfate de zinc cristallisé.....      | 0,047 g.                        |
| Sulfate ferreux cristallisé.....      | 0,047 g.                        |
| Saccharose.....                       | 46,667 g.                       |
| Eau .....                             | q. s. pour 1000 cm <sup>3</sup> |

Sur ce milieu le développement est très lent: au bout de 6 jours de culture le poids de substance sèche formée n'est que de 0,3705 g. et 1/7 environ du sucre a été utilisé, ce qui n'a rien d'étonnant: DOBY et KERTESZ (69) ont montré l'importance du potassium sur l'activité de la sucrase chez *Penicillium*.

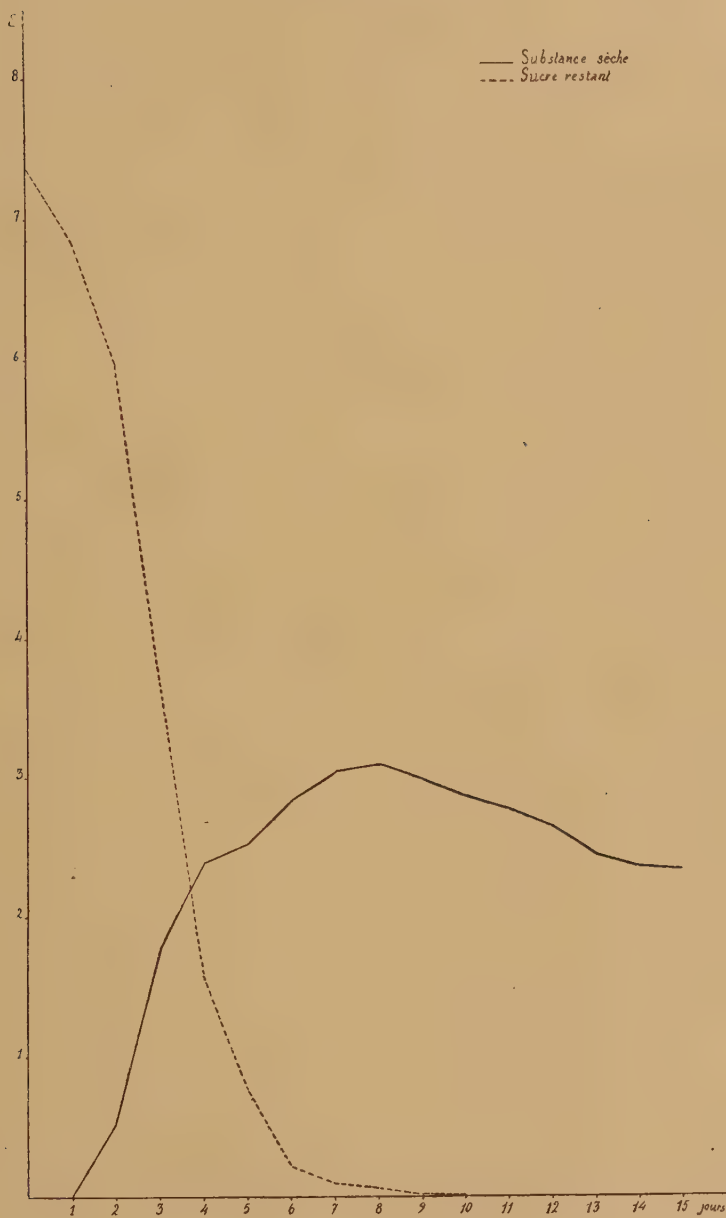
Nous nous sommes donc adressés à un milieu plus riche et nous avons choisi un milieu contenant 1/5 du potassium normal. Il a été préparé très simplement par mélange de 1 partie de liquide nutritif normal avec 4 parties de liquide sans potassium défini plus haut. Sur ce nouveau milieu le développement étant encore assez lent, nous avons effectué à titre préliminaire de séries de culture portant jusqu'à une durée de 15 jours, avec récolte chaque jour. A chaque récolte, il était effectué la mesure colorimétrique de l'acidité actuelle, le dosage du sucre restant dans le liquide et la détermination du poids de substance sèche formée par un mycélium. Les moyennes de ces résultats sont rapportées dans le tableau V et traduites par le graphique IX.

TABLEAU V

| Durées<br>de<br>culture<br>(en<br>jours) | pH du<br>liqui-<br>de | Sucre<br>restant<br>en<br>glucose | Subs-<br>tance<br>sèche<br>(en g.) | Durées<br>de<br>culture<br>(en<br>jours) | pH du<br>liquide | Sucre<br>restant<br>en<br>glucose | Subs-<br>tance<br>sèche<br>(en g.) |
|------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------|------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 0                                        | 6.6                   | 7.350                             | 0.0                                | 8                                        | 1.6              | 0.078                             | 3.090                              |
| 1                                        | 6.4                   | 6.840                             | 0.006                              | 9                                        | 1.6              | 0.017                             | 2.994                              |
| 2                                        | 4.6                   | 5.974                             | 0.524                              | 10                                       | 1.6              | 0.015                             | 2.879                              |
| 3                                        | 3.5                   | 3.661                             | 1.780                              | 11                                       | 1.6              | traces                            | 2.780                              |
| 4                                        | 2.2                   | 1.575                             | 2.392                              | 12                                       | 1.6              | »»                                | 2.663                              |
| 5                                        | 1.8                   | 0.777                             | 2.522                              | 13                                       | 1.9              | »»                                | 2.457                              |
| 6                                        | 1.6                   | 0.238                             | 2.842                              | 14                                       | 2.2              | »»                                | 2.373                              |
| 7                                        | 1.6                   | 0.100                             | 3.049                              | 15                                       | 2.2              | »»                                | 2.356                              |

On constate que dans ces conditions, l'évolution devient beaucoup plus rapide et que, en particulier, le sucre est pratiquement disparu au bout de 7 à 8 jours; d'autre part, le maximum de substance sèche formée se produit vers le même moment avec une valeur voisine de celle correspondante en milieu normal. Enfin à ce stade de développement, l'acidité actuelle est identique à celle que l'on trouve en milieu normal au moment de la sporulation (pH = 1,6). Dans ce liquide la sporulation se produit dès que l'acidité

GRAPHIQUE IX



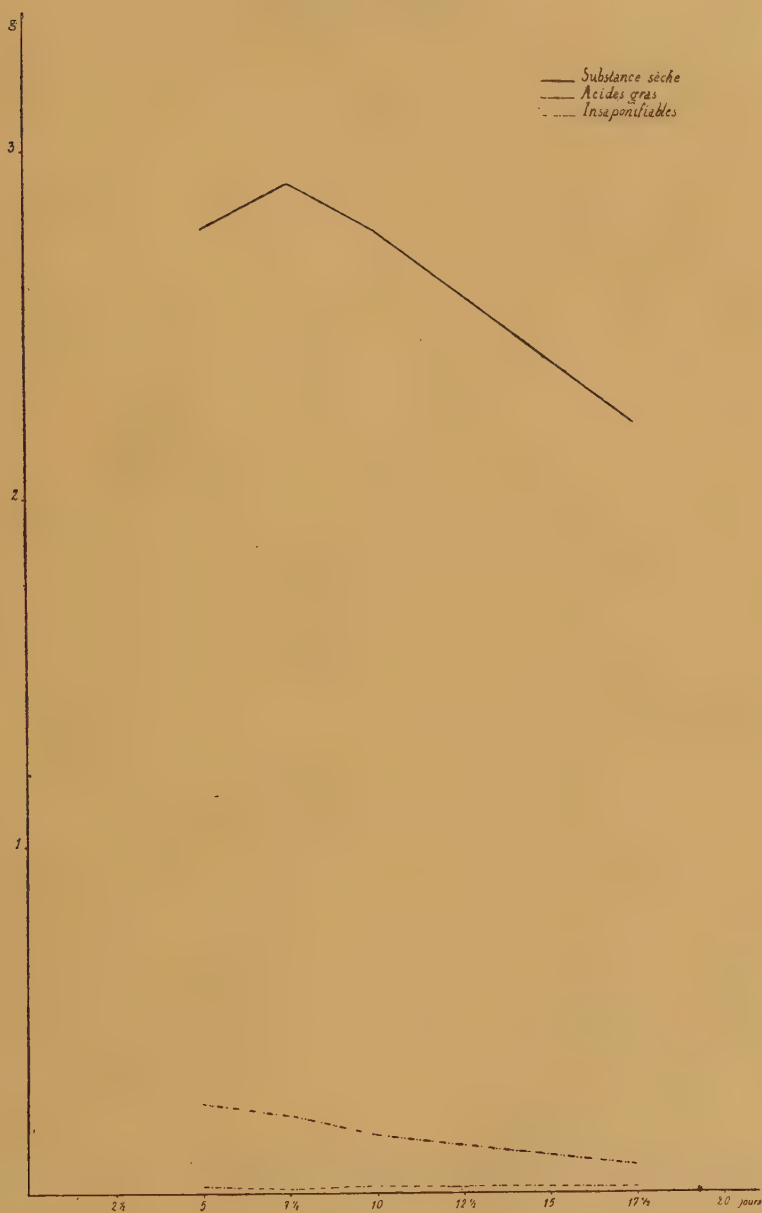
actuelle atteint cette valeur 1,6, c'est-à-dire qu'elle débute au 6<sup>e</sup> jour et elle se termine vers le 13<sup>e</sup> jour, mais elle est au total beaucoup moins intense que dans le milieu normal. Par superposition des courbes de développement en milieu normal et dans ce milieu, pauvre en potassium nous avons trouvé que les points correspondants à nos récoltes en milieu normal se trouvaient, pour ce milieu, à 5 jours, 7 jours 1/2, 10 jours et 17 jours 1/2. Les résultats d'analyse que nous donnons se rapportent donc à des cultures récoltées à ces états de développement (tableau VI, graphiques X et XI).

TABLEAU VI

| Durées de culture...                                      | 5 jours   | 7 jours 1/2 | 10 jours  | 17 j. 1/2 |
|-----------------------------------------------------------|-----------|-------------|-----------|-----------|
| pH au moment des récoltes.....                            | 1.6       | 1.6         | 1.6       | 2.2       |
| Substance sèche d'un mycélium .....                       | 2.783 g.  | 2.908 g.    | 2.774 g.  | 2.225 g.  |
| Poids des acides gras totaux .....                        | 0.2619 g. | 0.2487 g.   | 0.1719 g. | 0.0852 g. |
| Points de fusion des acides gras.....                     | 35°-37°   | 34°-36      | 34°5-35°5 | 35°       |
| Poids moléculaire moyens des acides gras .....            | 311       | 319         | 366       | 301       |
| Indices d'iode moyens des acides gras....                 | 73.1      | 77.3        | 83.4      | 70.9      |
| Poids des insaponifiables totaux....                      | 0.0234 g. | 0.0184 g.   | 0.0209 g. | 0.0170 g. |
| Poids des stérols....                                     | 0.0063 g. | 0.0009 g.   | 0.0084 g. | 0.0059 g. |
| Poids de l'insaponifiable X.....                          | 0.0171 g. | 0.0175 g.   | 0.0125 g. | 0.0121 g. |
| Poids du phosphore lipidique.....                         | 0.0013 g. | 0.0011 g.   | 0.0010 g. | 0.0 g.    |
| Poids des acides gras de l'élément constant (calculé).... | 0.0195 g. | 0.0165 g.   | 0.0150 g. | 0.0. g.   |
| Poids des acides gras de l'élément variable (calculé)...  | 0.2424 g. | 0.2322 g.   | 0.1569 g. | 0.0842 g. |

Il aurait été intéressant de suivre, dans ce milieu, l'utilisation du potassium par le Champignon. Nous n'avons pas effectué cette recherche car elle nécessitait pour nous toute la mise au point d'un semimicrodosage du potassium dans les complexes organiques et, d'autre part, l'étude du développement du mycélium permet de prévoir presque avec certitude le moment où se produit

GRAPHIQUE X



la carence en potassium : en effet, celle-ci se produit presque certainement au moment où le poids maximum va être atteint bien qu'il reste dans le liquide une quantité encore appréciable de sucre qui permettra, pendant les jours suivants, au mycélium de rester à un poids constant par formation de substances inertes (membranes) compensant une autolyse déjà notable bien que peu accentuée.

La quantité des acides gras totaux diminue continuellement de la première à la dernière récolte, l'utilisation par le mycélium des graisses qu'il forme avant la disparition complète du sucre et avant le maximum de croissance de celui-ci semble correspondre à l'inanition en potassium qui doit, *a priori*, se produire au voisinage du moment de la première récolte. Pendant la sporulation, l'utilisation des acides gras est assez rapide et elle se ralentit au cours de l'autolyse finale.

Au point de vue qualitatif, les acides gras totaux formés par le mycélium présentent une teinte jaune d'or assez intense d'autant plus intense d'ailleurs que le mycélium dont ils proviennent est plus âgé ; abandonnés à eux-mêmes, les acides gras se décolorent progressivement. Leurs points de fusion sont relativement élevés, généralement supérieurs à la température de culture ; ils se rapprochent, sur ce point, des acides gras que l'on trouve dans les mycéliums obtenus sur milieu à tendance acide. Il convient également de noter que les acides provenant de la dernière récolte présentent une fusion franche. Les poids moléculaires moyens sont très élevés et leur variation est parallèle à celle qui se produit dans le milieu à tendance acide, leurs valeurs étant cependant nettement supérieures à celles que l'on trouve dans ce milieu. Les indices d'iode moyens des acides gras totaux augmentent jusqu'au dixième jour pour diminuer ensuite au cours de l'autolyse finale ; ils sont en moyenne assez élevés et du même ordre de grandeur que ceux que l'on trouve en milieu à tendance acide. Il est très curieux de constater le parallélisme entre les caractéristiques physiques et chimiques des acides gras dans ce milieu et dans le milieu à tendance acide, et ce parallélisme constaté entre le chimisme lipidique du *Sterigmatocystis nigra* dans ces deux milieux est à rapprocher du parallélisme des transformations morphologiques du mycélium

GRAPHIQUE XI



et également du parallélisme de l'absorption minérale constatée par M. MOLLIARD (215) entre ces deux milieux.

L'insaponifiable X présente une diminution au moment de la sporulation ; cette diminution se poursuivant ensuite beaucoup plus lentement au cours de l'autolyse finale. Si on remarque que la teinte des insaponifiables totaux reste blanc jaunâtre jusqu'au début de l'autolyse finale et s'intensifie au cours de celle-ci, on peut admettre que les constituants incolores de l'insaponifiable X sont utilisés pendant la sporulation et toute la phase d'autolyse, par contre les constituants colorés augmentent surtout d'une façon notable au cours de l'autolyse finale.

Les stérols sont nettement utilisés pendant le dernier stade de croissance, parallèlement aux acides gras, puis s'accumulent au début de l'autolyse par suite d'un catabolisme assez intense des acides gras qui fournit une quantité de stérols plus grande que celle utilisée par le mycélium ; enfin, le catabolisme des acides gras s'atténuant, l'utilisation des stérols l'emporte sur leur formation et leur quantité totale diminue légèrement. Au total, la quantité maxima des stérols formés est la même que celle que l'on trouve en milieu à tendance acide.

Le phosphore lipidique n'existe jamais en quantité considérable, ce qui tend à montrer que la quantité de matière vivante du mycélium est relativement faible. Dès la première récolte, la quantité de phosphore lipidique diminue, ce qui semble indiquer que l'inanition en potassium s'est déjà produite ou seulement commence, bien que la courbe de la quantité de substance sèche soit encore ascendante. La considération de la variation des acides gras totaux nous a d'ailleurs déjà conduit à la même conclusion. Cependant la disparition du phosphore lipidique est surtout active pendant l'autolyse finale. A la dernière récolte, le phosphore lipidique est tout juste décelable ce qui prouve que la phase d'autolyse est terminée. Si par le calcul en admettant, que, comme nous l'avons déjà fait précédemment, tout le phosphore lipidique est engagé dans la molécule de lécithine, on détermine les quantités des acides gras de la lécithine (acides gras de l'élément constant) et par différence avec le poids des acides gras totaux la quantité des acides gras de l'élément variable, on constate que l'utilisation de ceux-ci

est surtout active pendant la sporulation et pendant l'autolyse finale, c'est-à-dire quand le sucre fait défaut.

Au total compte tenu du ralentissement général du métabolisme, le milieu pauvre en potassium se comporte à bien des égards comme le milieu à tendance acide. Cependant la lipogénèse est proportionnellement presque aussi active qu'en milieu normal, mais par contre, les indices d'iode moyens très élevés indiquent un état de souffrance comparable à celui que l'on trouve en milieu à tendance acide. La quantité de stérols formés est toujours assez faible de même que la quantité de phosphore lipidique.

#### F. — L'ÉVOLUTION DES LIPIDES EN MILIEU NORMAL CONTENANT DU D-HEXANHEXOL COMME SOURCE DE CARBONE.

Dans certaines séries de culture, l'évolution des lipides étant inverse de celle du d-hexanhexol 1122 (mannite) il y avait lieu de se demander si l'hypothèse de M. S. DE LUCA (67) (68) ne pouvait s'appliquer au *Sterigmatocystis nigra* malgré son peu de vraisemblance en ce qui concerne les plantes supérieures. En effet, on ne peut supposer chez ce Champignon que le polyol dérive des lipides, comme dans les digestions *in vitro* étudiées par E. GAUTRELET (95), la teneur maxima en hexanhexol se trouvant tout au début de la phase de croissance. BELIN (10) a bien montré que la quantité des lipides formés était fonction de la quantité des sucres mis à la disposition du Champignon, mais il n'a pas cherché si la transformation des glucoses en lipides était immédiate. Il semble d'après les travaux récents sur la formation des graisses chez les végétaux supérieurs, que les acides gras proviennent d'alcools à poids moléculaires élevés (SCURTI, TOMMASI et FORNAINI (277) (278) (279) (280) (281) (282). Or il n'a été signalé jusqu'à présent, que l'hexanhexol comme alcool supérieur chez le *Sterigmatocystis*. Aussi est-il possible qu'il soit dans ce Champignon un stade de formation de lipides, bien que sa constitution soit beaucoup plus simple que celle des alcools cérosiques étudiés par SCURTI. Pour essayer de nous en rendre compte nous avons remplacé, dans le milieu de culture normal, le saccharose par l'hexanhexol en proportion telle que la quantité de carbone dont dispose le mycélium

soit la même (16,728 g.). H. COUPIN (54) a déjà montré, depuis 1904, que l'hexanhexol pouvait constituer un aliment carboné pour le *Sterigmatocystis*. F. OBATON (227) ayant signalé que la végétation est beaucoup plus lente lorsque l'hexanhexol constitue l'unique aliment carboné, mais que la présence d'un peu de saccharose partiellement interverti favorise la germination rapide des spores et le premier développement des filaments mycéliens, nous avons employé le milieu suivant dont le pH initial est de 4,8 :

|                                       |                                 |
|---------------------------------------|---------------------------------|
| Nitrate d'ammonium .....              | 3,560 g.                        |
| Phosphate monopotassique.....         | 0,947 g.                        |
| Sulfate de magnésium cristallisé..... | 0,407 g.                        |
| Sulfate de zinc cristallisé .....     | 0,047 g.                        |
| Sulfate ferreux cristallisé.....      | 0,047 g.                        |
| Saccharose.....                       | 13,260 g.                       |
| Hexanhexol.....                       | 35,230 g.                       |
| Eau .....                             | q. s. pour 1000 cm <sup>3</sup> |

Les sels minéraux sont les mêmes et dans la même proportion que dans le milieu normal. La quantité de saccharose introduite correspond à celle que le mycélium utilise en 24 heures.

Les résultats d'analyse calculés pour un mycélium sont rapportés dans le tableau VII et traduits par les graphiques XII et XIII.

TABLEAU VII

| Durées de culture...                                       | 48 h.     | 72 h.     | 96 h.     | 168 h.    |
|------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH au moment des récoltes.....                             | 4.6       | 4.4       | 6.0       | 6.0       |
| Substance sèche d'un mycélium .....                        | 1.465 g.  | 3.583 g.  | 2.702 g.  | 1.686 g.  |
| Poids des acides gras totaux.....                          | 0.0705 g. | 0.1658 g. | 0.0903 g. | 0.0292g.  |
| Points de fusion des acides gras.....                      | 29°-30°5  | 29°5-31°5 | 28°5-30°  | 30°-32°   |
| Poids moléculaires moyens des acides gras .....            | 154       | 191       | 270       | —         |
| Indices d'iode moyen des acides gras...                    | 41,1      | 43,6      | 46.8      | —         |
| Poids des insaponifiables totaux....                       | 0.0163 g. | 0.0259 g. | 0.0155 g. | 0.0338 g. |
| Poids des stérols....                                      | 0.0072 g. | 0.0182 g. | 0.0081 g. | 0.0214 g. |
| Poids de l'insaponifiable X.....                           | 0.0091 g. | 0.0077 g. | 0.0074 g. | 0.0124 g. |
| Poids du phosphore lipidique.....                          | 0.0024 g. | 0.0040 g. | 0.0028 g. | 0.0005 g. |
| Poids des acides gras de l'élément constant (calculé)..... | 0.0360 g. | 0.0600 g. | 0.0420 g. | 0.0075 g. |
| Poids des acides gras de l'élément variable (calculé)...   | 0.0345 g. | 0.1058 g. | 0.0483 g. | 0.0217 g. |

Au bout de 48 heures de culture, le mycélium forme un voile continu, gaufré assez mince, avec quelques conidies noires sur les bords ; le poids de substance sèche formée est assez faible ; le pH du liquide est presque le même qu'au début de la culture : 4,6. A la deuxième récolte (72 heures), le mycélium, plus épais et plus lourd qu'en milieu normal au même moment, a un aspect velouté et présente quelques plages de conidies noires ou brunes ; le liquide, encore à peine coloré, a un pH égal à 4,4. Le quatrième jour de culture, les mycéliums sont complètement sporulés depuis plus de 12 heures et l'autolyse est déjà assez avancée ; les voiles mycéliens ont perdu leur turgescence et le pH du milieu tend vers la neutralité (pH = 6). Enfin au bout d'une semaine de culture l'autolyse est pratiquement complète, les mycéliums sont mous et fragiles, le liquide est fortement coloré et son pH, autant que l'on puisse se baser sur une donnée colorimétrique dans un liquide aussi teinté, s'est montré égal à 6.

La variation de la quantité de la substance sèche formée est assez voisine de celle du milieu normal et bien que la croissance du mycélium soit un peu plus lente au début, le maximum atteint en 72 heures est un peu plus élevé ; ceci s'explique facilement en remarquant que le mycélium dispose d'une plus grande quantité d'énergie. Le calcul montre en effet que, pour 1000 cm<sup>3</sup> de liqueur nutritive, on a :

Energie disponible en milieu normal :

$$\frac{1355 \times 45,6}{342,1} = 184,57 \text{ mth. (1)}$$

Energie disponible en milieu à l'hexanexhol :

$$\text{Energie du saccharose : } \frac{1355 \times 13,26}{342,1} = 52,52 \text{ mth.}$$

$$\text{Energie de l'hexanhexol : } \frac{728,5 \times 35,23}{182,1} = 140,94 \text{ mth.}$$

$$\text{Energie totale disponible : } 52,52 + 140,94 = 193,46 \text{ mth.}$$

(1) Le décret du 26 juillet 1919 a supprimé le terme de calorie, qui pouvait prêter à confusion et a donné pour unité de quantité de chaleur la thermie unité du système M. T. S. dont les sous-multiples sont la millithermie (ancienne grande calorie) et la microthermie (petite calorie).

# GRAPHIQUE XII



ce qui donne pour 150 cm<sup>3</sup> de liqueur nutritive, quantité dont dispose un mycélium les quantités d'énergie suivantes :

$$\text{Milieu normal : } \frac{184,57 \times 150}{1000} = 27,686 \text{ mth.}$$

$$\text{Milieu à l'hexanhexol : } \frac{193,46 \times 150}{1000} = 29,019 \text{ mth.}$$

En admettant que les glucides sont complètement utilisés au bout de 72 heures, ce qui est pratiquement exact, un gramme de substance sèche formée correspond à une dépense énergétique :

$$\text{Milieu normal : } \frac{27,686}{3,229} = 8,57 \text{ mth.}$$

$$\text{Milieu de l'hexanhexol : } \frac{29,019}{3,583} = 8,09 \text{ mth.}$$

Ces chiffres sont extrêmement voisins ; ils indiquent cependant une réduction de la dépense énergétique dans le milieu à l'hexanhexol pendant la phase de croissance. TERROINE et BONNET (306) ont d'ailleurs signalé déjà ce fait. Cette réduction de la consommation correspond-elle à la réduction de l'intensité respiratoire constatée par F. OBATON ? c'est possible. On peut noter que les dépenses énergétiques que nous indiquons correspondent à des valeurs un peu plus faibles que celles indiquées par TERROINE et WURMSER (311) pour le glucose. En effet, ceux-ci ont indiqué qu'il fallait pour édifier 1 g. de mycélium, 2,2 g. de glucose et une ration d'entretien de 0,011 g. par heure. Ces données conduisent pour 1 g. de mycélium considéré à 72 heures à une dépense énergétique :

$$\frac{673 \times (2,2 + 0,011 \times 72)}{198,1} = 10,16 \text{ mth.}$$

Mais M. MOLLIARD (212) a indiqué que « de très faibles changements dans la composition du liquide de culture, sont capables de modifier, d'une manière appréciable, le rendement énergétique comme le rendement pondéral » ; la différence, en effet, est plus considérable que celle qui peut résulter de l'emploi du saccharose au lieu de glucose, les rendements énergétiques pour ces deux substances étant très voisins comme l'a noté L. DE CARO (65).

Les acides gras n'existent qu'en quantité assez faible : au maximum, ils représentent 5,0% du poids de la substance sèche. A 72 heures, au moment du maximum de développement, ils représentent 4,6% du poids de la substance sèche contre 8,3% au

même stade en milieu normal. Leur utilisation au cours de l'autolyse est assez rapide. En considérant les quantités extraordinairement élevées de stérols qui se forment pendant la phase de croissance, on est amené à admettre qu'une partie des acides gras formés n'a qu'une existence très fugace et qu'elle est utilisée par le mycélium au fur et à mesure de son apparition. Il est assez curieux de constater ainsi que l'hexanhexol qui constitue pour le *Sterigmatocystis* un excellent aliment plastique ne semble pas être directement utilisé comme aliment respiratoire.

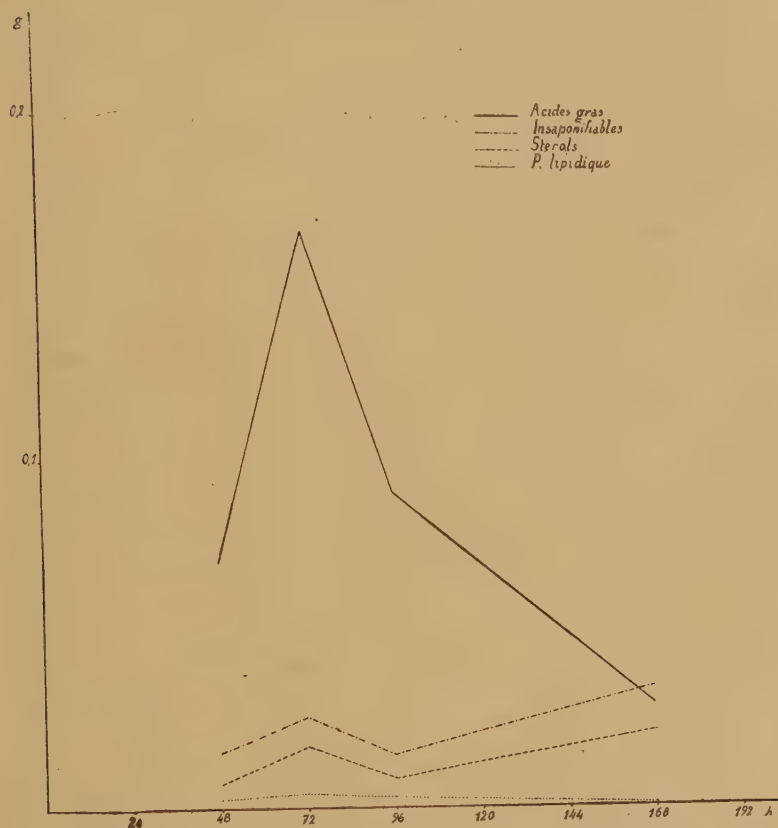
Au point de vue qualitatif, les acides gras totaux extraits sont de couleur variant du blanc jaunâtre au jaune d'or foncé. Leurs points de fusion relativement bas sont très voisins de ceux des acides trouvés en milieu normal, ils augmentent très légèrement jusqu'au moment du maximum de poids, diminuent ensuite pendant la sporulation et augmentent enfin au cours de l'autolyse. Leurs poids moléculaires moyens très faibles, 200 en moyenne, augmentent continuellement. Les indices d'iode moyens très faibles également, varient en des limites étroites, ce qui peut s'expliquer par une variation parallèle des acides de l'élément constant et des acides de l'élément variable, ces derniers étant le plus souvent en effet, des acides saturés ; ces acides de l'élément variable seraient, donc assez voisins de leurs correspondants en milieu normal, cependant l'indice d'iode en moyenne un peu plus élevé qu'en milieu normal correspond à un pH du milieu de culture plus voisin de la neutralité, ce qui confirme une hypothèse émise plus haut ; la réaction conditionne surtout l'anabolisme qualitatif des lipides.

L'insaponifiable X varie peu quantitativement, cependant ses constituants doivent varier dans des limites assez larges ; en effet les constituants colorés apparaissent au début de la sporulation et semblent augmenter pendant l'autolyse, si on en juge d'après la coloration de l'insaponifiable total, par contre dès la fin de la deuxième journée de culture, les constituants incolores paraissent utilisés par le Champignon.

Les stérols sont en moyenne très abondants et augmentent très rapidement pendant la phase de croissance ce qui permet de penser à une utilisation simultanée d'acides gras ; pendant la fructification leur quantité diminue, ce qui amène, vu la diminution simultanée des acides gras, à conclure à leur utilisation très active

pendant cette période ; enfin, au cours de l'autolyse leur quantité augmente à nouveau par suite du catabolisme des acides gras pour atteindre la proportion énorme de 1,87% dans le mycélium autolysé.

GRAPHIQUE XIII



Le poids de phosphore lipidique augmente pendant la phase de croissance pour diminuer ensuite, sans qu'il y ait parallélisme entre sa courbe de variation et celle du poids de la substance sèche. Si par le calcul nous déterminons les quantités d'acides gras de l'élément constant et de l'élément variable, on constate des variations sensiblement parallèles confirmant notre point de vue précédent.

En résumé, quand le mycélium dispose d'hexanhexol comme source de carbone le métabolisme général est profondément modifié ; en ce qui concerne les lipides la déviation du métabolisme est avant tout quantitative, les caractères physiques, et chimiques des acides gras formés étant en effet tout-à-fait comparables à ceux qui ont été trouvés en milieu normal. Les résultats obtenus ne permettent pas d'affirmer, ni d'infirmer d'ailleurs que l'hexanhexol soit un stade intermédiaire de l'anabolisme des acides gras.

### G. — LA NUTRITION DU *STERIGMATOCYSTIS NIGRA* AUX DÉPENS DES GRAISSES.

Bien que l'existence de lipase chez le *Sterigmatocystis* soit certaine depuis déjà longtemps, il était intéressant de vérifier à nouveau ce point. Pour cela nous avons cultivé le Champignon sur un milieu où la source de carbone était constituée par une graisse, tantôt de l'huile d'olive pure, tantôt la graisse brute extraite du Champignon lui-même, en proportion telle que la quantité de carbone disponible soit la même que dans les autres milieux.

Les émulsions grasses étant instables, nous les avons stabilisées par de la gélose, après nous être assurés, après d'autres chercheurs d'ailleurs, que cette substance ne pouvait constituer un aliment carboné pour le *Sterigmatocystis*.

Nous n'avons fait pour ces milieux gras qu'une observation qualitative. Des déterminations quantitatives ont été faites par BELIN (11) et les résultats apportés méritent toute confiance nous ne ferons que les rappeler : qualitativement les acides, gras du mycélium végétant sur graisses sont intermédiaires entre les acides gras du mycélium végétant sur glucose et les acides gras de la graisse fournie comme aliment carboné ; quantitativement, ils sont d'autant plus abondants que la concentration du milieu nutritif en aliment carboné est plus grande. D'autre part, E.-F. TERROINE, R. BONNET, G. KOPP et J. VÉCHOT (309) ont signalé la plus grande abondance des stérols dans les mycéliums cultivés sur graisse.

Dans notre première série de cultures, les mycéliums développés, aussi bien en présence d'huile d'olive, que de graisse brute

de *Sterigmatocystis*, présentaient au bout du huitième jour une belle teinte jaune soufre. Observés au microscope, ils ne se montraient pas colorés et présentaient l'aspect normal de mycéliums de *Sterigmatocystis* : les appareils conidiens étaient typiques ; la teinte jaune était due à la présence de fines gouttelettes incluses entre les filaments mycéliens et fortement colorés en jaune par un pigment dissout dans le liquide. Par la suite, le 10<sup>e</sup> jour, des conidies noires se sont formées et l'aspect général de la culture est devenu celui d'une culture normalement développée. Cette formation de pigment jaune avait déjà été observée par ROUSSY (265) dans des cultures faites sur milieux nutritifs avec axonge ou acides gras. Ce pigment est de même nature que celui qui se forme dans les cultures sur milieux déséquilibrés et en particulier semble être ce que FREY a décrit comme « chromogène ». Cette formation de pigment jaune ne s'est jamais reproduite dans les séries de cultures suivantes où nous avons modifié le mode de préparation du milieu gélosé.

Nous nous étions aperçu qu'au cours de la préparation classique des milieux solidifiés, pendant la filtration, une certaine quantité de substances minérales était perdue sous forme de précipité restant sur le filtre, aussi dans les séries suivantes, avons-nous préparé le milieu gélosé par mélange en proportions convenables de gélose solubilisée et filtrée et de liquide nutritif concentré neutralisé. Nous (239) avons d'ailleurs signalé sommairement ce point et nous avons conclu que la formation du pigment jaune était due avant tout, à un déséquilibre minéral du milieu nutritif.

Le développement du Champignon sur milieux contenant des lipides comme source de carbone est toujours plus lent que sur milieux contenant des glucides. On peut en conclure que les lipides sont surtout des aliments respiratoires et constituent, au contraire, de très mauvais aliments plastiques. D'autre part, le développement se produit aussi bien sur milieu contenant de l'huile d'olive que sur milieu contenant la graisse brute extraite du mycélium.

## H. — RECHERCHES SUR LA PLASTINE

Nous avons appelé, sans préjuger de rien, du nom de plastine la substance assez abondante qui existe chez le *Sterigmatocystis* et qui précipite par refroidissement de l'extrait alcoolique. Certaines de ses propriétés la rapprochent, en effet, de la substance trouvée par REINKE chez *Fuligo septica*. L'étude de cette substance fut le point de départ de notre travail où nous nous étions proposé de déterminer sa nature et son rôle. Nous avons d'abord cherché à déterminer pondéralement son évolution dans le mycélium en fonction de la durée de culture et de la nature du milieu nutritif, quand nous nous sommes aperçu que cette substance présentait une certaine solubilité dans l'alcool froid. Devant l'impossibilité matérielle de la déterminer quantitativement par isolement et pesée du précipité obtenu par refroidissement de l'extrait alcoolique, nous avons recherché sa composition pour pouvoir la doser par un de ses constituants. Nous nous sommes aperçus alors que la plastine était un mélange complexe qui pouvait adsorber une quantité considérable de produits et en particulier des substances grasses et c'est ainsi que nous avons été amené à étudier ces dernières. Cependant nous avons pu mettre en évidence certaines propriétés de cette plastine que nous allons rapporter.

### I. — Solubilité.

La plastine est assez soluble dans l'alcool à 95° bouillant et peu soluble dans l'alcool à 95° froid, ce qui permet de la déterminer qualitativement. Par refroidissement de l'alcool elle précipite en flocons amorphes. A 0° sa solubilité dans l'alcool à 95° est de 0,5%.

Cette propriété peut-être utilisée pour sa purification, mais on constate alors que sa solubilité dans l'alcool éthylique chaud diminue. Cette diminution de la solubilité peut être due ou bien à la disparition d'un produit soluble dans l'alcool et qui produirait

pour la plastine un phénomène de solubilité réciproque, ou bien à une transformation (oxydation, hydratation) de la plastine au cours des opérations de filtration. Il semble que cette dernière hypothèse, soit plus vraisemblable car la plastine, insoluble dans l'éthanol, est encore soluble dans l'alcool amylique à l'ébullition et cette reprise par l'alcool amylique qui, a pour effet probable de la déshydrater, la rend à nouveau soluble dans l'éthanol bouillant.

La plastine est insoluble dans l'eau et l'addition d'eau à une solution alcoolique la précipite intégralement.

L'éther entraîne de la plastine un produit amorphe légèrement coloré en jaune et brunissant à l'air. La solubilité de ce produit qui est probablement une impureté est de 0,3% dans l'éther à 15°. La benzène et le chloroforme ont une action comparable à celle de l'éther.

L'éther de pétrole bouillant au-dessous de 50° ne présente aucune action dissolvante sensible sur la plastine bien purifiée.

L'acétone dissout une partie de la plastine. Après évaporation d'un extrait cétonique chaud, il se dépose un produit amorphe jaune d'or, qui semble d'ailleurs être une impureté.

Parmi les solvants chimiques usuels des produits organiques, carbonate de soude, acide sulfurique étendu, lessive de soude, aucun ne s'est montré actif ce qui indique que la plastine n'est ni un acide, ni un phénol, ni une base organique.

## 2. — Préparation et purification.

Ces propriétés de solubilité permettent de prévoir un mode de préparation et de purification.

Le mycélium fixé par l'alcool bouillant est extrait dans l'appareil de KUMAGAWA par l'alcool à 95°. L'extrait alcoolique est évaporé sous le vide, l'extrait sec obtenu épuisé à l'éther anhydre bouillant pour éliminer les lipides, mis en suspension dans l'eau et séparé par filtration en s'aidant du vide. On obtient dans ces conditions environ 1,65% du poids de substance sèche traité de plastine brute, pour des mycéliums de 56 heures cultivés sur milieu normal.

Le produit obtenu est repris par l'alcool à 95° bouillant : une partie seulement se dissout (Cf. plus haut) ; l'extrait est filtré bouillant puis abandonné au refroidissement ; la plastine précipitée est isolée par filtration, lavée à l'éther, à l'alcool et à l'eau.

Le produit obtenu présente une teinte gris cendré, est finement pulvérulent. La quantité obtenue représente environ 10% du produit brut traité, soit rapporté au poids de substance sèche du mycélium 0,17%. C'est ce produit que nous avons admis être la plastine pure et qui a servi pour nos déterminations.

### 3. — Propriétés organoleptiques.

La plastine a un toucher onctueux dû à son état finement pulvérulent, elle adhère fortement à la peau ; elle est inodore et présente un goût fade de paraffine.

### 4. — Propriétés chimiques.

En solution alcoolique la plastine est neutre au tournesol ; en suspension dans l'eau, l'eau ne présente aucune réaction au tournesol.

Chauffée dans un tube à essai, la plastine se décompose avant fusion avec une abondante production de gaz de couleur brune, à odeur de corne brûlée indiquant la présence d'azote, ne présentant aucune réaction au tournesol.

Chauffée en milieu acide, la plastine donne naissance à des vapeurs ayant une légère odeur de sueur et faisant virer faiblement le tournesol bleu (présence d'acide caproïque ou caprylique).

Chauffée en milieu alcalin, elle ne donne pas de dégagement gazeux appréciable à l'odeur ou au tournesol rouge.

Chauffée avec de la chaux sodée, elle donne de l'ammoniac décelable à l'odeur et au tournesol rouge et des vapeurs dont l'odeur rappelle celle des vapeurs de paraffine. Nous pouvons en conclure à la présence de groupe amino et à celle d'acides aliphatiques ou alicycliques à grosses molécules.

La plastine brûle à l'air libre avec une flamme éclairante sans laisser de cendres.

Elle ne réduit pas la liqueur de FEHLING.

A l'analyse, elle donne 7,22% d'azote, des traces de soufre. Elle ne contient ni phosphore ni métaux.

### 5. — Propriétés physiques autres que la solubilité.

La plastine en solution alcoolique à 0,5%, en tube de 30 cm ne dévie pas la lumière polarisée.

La plastine purifiée est amorphe et présente des propriétés adsorbantes considérables. Les lipides sont fortement adsorbés. Dans certains cas nous avons trouvé dans la plastine brute jusqu'à 80% d'extrait total c'est-à-dire du mélange acide gras et insaponifiable. C'est ce qui explique certaines réactions lipidiques données par la plastine brute. La plastine adsorbe aussi les glucols. Le produit d'extraction lavé à l'eau et à l'éther peut contenir encore 40% d'hexanhexol que l'on peut séparer par cristallisations fractionnées et que l'on peut reconnaître à sa saveur sucrée, ses cristaux en aiguilles soyeuses et son point de fusion (164°C). La plastine adsorbe également les pigments et en particulier l'aspergilline qui la colore fortement et qui est presque impossible à séparer.

### 6. — Variations.

Par suite des difficultés de purification, il nous a été impossible de déterminer la nature chimique de la plastine et d'en effectuer le dosage avec certitude.

Si nous comparons les poids de plastine brute d'extraction, c'est-à-dire contenant adsorbés des lipides, des glucols et des pigments, il semble que c'est en milieu à tendance acide que la quantité par mycélium est la plus grande et, inversement, que c'est en milieu à tendance alcaline que la quantité par mycélium est la plus faible ; d'autre part, quel que soit le milieu de culture considéré, la quantité de plastine brute d'extraction augmente jusqu'au maximum de développement, diminue très rapidement dans les premières vingt-quatre heures de l'autolyse, plus lentement dans les vingt quatre heures suivantes et reste finalement sensiblement constante. Ces résultats se rapportant à un produit très impur, leur interprétation est matériellement impossible.

### 7. — Conclusion.

Nous ne pouvons malheureusement apporter aucun fait précis sur cette substance probablement très répandue chez les Champi-

gnons. Cependant, nous croyons pouvoir signaler incidemment que chez *Craterellus cornucopioides* où nous avons décelé une grande quantité d'hexanhexol nous n'avons pu la trouver. Les seules choses intéressantes que nous pouvons indiquer sur cette substance sont sa nature protidique et son pouvoir adsorbant considérable susceptible de gêner certains dosages et même, dans certains cas, de les fausser complètement.

---

## V. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Nous avons pu montrer par ce travail que :

1° La formation des glycérides chez le *Sterigmatocystis* est conditionnée par la nature du milieu minéral, qualitativement surtout par sa réaction et quantitativement plutôt par la composition chimique du milieu ;

2° La formation des glycérides se produit tant que le mycélium dispose d'une quantité suffisante d'aliments, aussi bien minéraux qu'organiques ;

3° La nature des glycérides formés est indépendante de la nature de l'aliment glucidique ;

4° L'utilisation des glycérides accumulés par le mycélium se produit lorsque le milieu nutritif est épuisé en un élément minéral ou organique quelconque, et probablement aussi lorsque l'aliment organique fourni n'est pas un bon aliment respiratoire ;

5° Le mode d'utilisation des glycérides est sous la dépendance de la composition du milieu minéral ;

6° l'utilisation des glycérides par le mycélium entraîne la formation des stérols, ce qui confirme les expériences de E.-F. TERROINE ;

7° les stérols sont toujours plus ou moins utilisés par le mycélium au moment des migrations de substance accompagnant la sporulation et d'une façon moins intense au cours de l'autolyse finale ;

8° la quantité de phosphore lipidique est d'autant plus grande que le mycélium se développe dans des conditions plus favorables

Nous avons pu d'autre part confirmer que :

1° les indices de neutralisation des acides gras totaux formés sont d'autant plus grands, ou, ce qui revient au même, les poids moléculaires moyens sont d'autant plus faibles, que les conditions de végétation sont plus difficiles, ainsi qu'il avait été établi par DUBAQUIÉ ;

2° les indices d'iode des acides gras totaux formés sont d'autant plus faibles que les conditions de végétation sont plus favo-

rables, ce que TERROINE, BONNET, KOPP et VÉCHOT ont supposé : « la formation des acides gras saturés serait non seulement le témoin mais la conséquence d'une plus grande activité des processus vitaux » ;

3° dans les conditions normales de végétation, l'indice d'iode des acides gras totaux augmente au cours de leur formation, ce qui indique une formation plus rapide des acides gras saturés analogue à celle que IVANOW a trouvé au cours de la maturation des graines de Lin ;

4° dans les conditions normales de végétation, l'utilisation des acides gras débute par les acides gras à faible poids moléculaire comme au cours de la germination de graines oléagineuses ;

5° dans les conditions normales de végétation, l'utilisation des acides gras débute par celle des acides gras à liaisons éthyléniques, comme au cours de l'utilisation des graisses données comme aliment carboné aux moisissures et au cours de la germination de graines oléagineuses.

Par contre nous infirmons catégoriquement une hypothèse de DUBAQUIÉ par laquelle les phosphoaminolipides seraient des intermédiaires dans la formation des glycérides, sans nier toutefois le rôle considérable que doit jouer le phosphore dans le métabolisme lipidique et également l'affirmation de ce même auteur d'après laquelle l'utilisation des glycérides serait uniquement fonction de l'état de développement du mycélium.

Enfin nous n'avons pu établir ni le mécanisme intime de la formation des lipides chez le *Sterigmatocystis* ni celui de l'action du milieu minéral sur le métabolisme lipidique, de même que nous n'avons pu reconnaître, avec certitude, la nature et la variation de la substance que nous avons appelée plastine.

---

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. ABDERHALDEN (E.). — *Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden*. Berlin u. Wien, Urban u. Schwarzenberg, 1909-1911.
2. ABDERHALDEN (E.). — *Biochemisches Handlexikon*. Berlin, J. Springer, 1910 s.s.
3. ALSBERG (C. L.) et BLACK (O. F.). — Biological and toxicological studies upon *Penicillium puberulum* Bainier. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, IX, 1911, p. 6.
4. ASO (K.). — Cité d'après CZAPEK (57), I, p. 758.
5. BAMBERGER (M.) et LANDSIEDL (A.). — Beiträge zur Chemie der Sklerodermeen. *Monatsh. f. Chem.*, XXVI, 1905, p. 1109.
6. BANG (I.). — Die Microbestimmung der Blutlipide. *Biochem. Zeitschr.*, XCI, 1918, p. 235.
7. BARBER (H.H.). — The production of fat from carbohydrate and similar media by a species of *Penicillium*. *Biochem. Journ.*, XXIII, 1929, p. 1158.
8. BAYER (J.). — Cité d'après REINDEL (252).
9. BEAUVERIE. — Etude sur le polymorphisme des Champignons. Influence du milieu. *Thèse Sciences*, Lyon, 1900, 266 p.
10. BELIN (P.). — Généralité de la distinction entre deux catégories de matières grasses : élément constant et élément variable. *Bull. Soc. Chim. biol.*, VIII, 1926, p. 1081.
11. BELIN (P.). — Influence de l'alimentation sur la constitution des graisses de réserve : élément variable. *Bull. Soc. Chim. biol.*, VIII, 1926, p. 1120.
12. BELZUNG. — Untersuchung von *Secale cornutum*. *Just Bot. Jahresber.* II, 1890, p. 312.
13. BERNARD (M.). — Bei der Bestimmung des Glycerin. *Zeitschr. f. anal. Chem.*, XLII, 1903, p. 661.
14. BIFFEN (R.H.). — A fat destroying fungus. *Ann. of Bot.*, XIII 1899, p. 363.
15. BILTZ (H.). — Cité d'après LUDWIG (190.)
16. BISSINGER (T.). — Ueber die Bestandteile der Pilze *Lactarius piperatus* und *Elaphomyces granulatus*. *Arch. der Pharm.* (3), XXI, 1883, p. 321.
17. BLOOR (W. R.). — A method for the determination of small amounts of fat. *Biochem. Bull.*, III, 1913, p. 87.
18. BOEHM (R.). — Beiträge zur Kenntnis des Hutmilzes in chemischer und toxikologischer Beziehung. *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm.*, XIX, 1885, p. 60.
19. BOHN (P.R.). — Le mécanisme de la synthèse des graisses aux dépens des glucides. *C. R. Ac. Sc.*, CXCI, 1931, p. 441.

20. BOLLEY (P.). — Beiträge zur Kenntniss der in den Schwammen enthaltenen Säuren. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.*, LXXXVI, 1853, p. 44.
21. BOUDIER (E.). — *Les champignons au point de vue de leurs caractères usuels chimiques et toxicologiques*. Paris, J.-B. Baillière, 1866.
22. BOUDIER (E.). — De l'importance qu'on doit attacher aux gouttelettes oléagineuses contenues dans les spores chez les Discomycètes. *Rev. gén. Bot.*, XXV bis, 1914, p. 51.
23. BOUGAULT (J.) et CHARAUX (C.). — Sur l'acide lactarinique, acide cétostéarique retiré de quelques Champignons du genre *Lactarius*. *Journ. Pharm. Chim.*, (7), IV, 1911, p. 337.
24. BOUGAULT (J.) et CHARAUX (C.). — Sur l'acide lactarinique, acide cétostéarique retiré de quelques Champignons du genre *Lactarius*. *C. R. Ac. Sc.*, CLIII, 1911, p. 572.
25. BOUGAULT (J.) et CHARAUX (C.). — Sur l'acide lactarinique, acide cétostéarique retiré de quelques Champignons du genre *Lactaire*. *Journ. Pharm. Chim.*, (7), IV, 1911, p. 489.
26. BOUGAULT (J.) et CHARAUX (C.). — Acide lactarinique, acide lactarique et acide stéarique chez les Champignons. *Journ. Pharm. Chim.*, (7), V, 1912, p. 65.
27. BOUILLON-LAGRANGE. — Examen chimique de la Truffe Lyco-perdon, *Tuber Linn.* *Ann. de Chim.*, XLVI, 1804, p. 191.
28. BOUILLON-LAGRANGE. — Analyse de deux espèces d'Agaric, le *Boletus Larix* et le *Boletus igniarius* (Linn.) *Ann. de Chim.*, LI, 1804, p. 75.
29. BORDAS (F.) et RACZKOWSKI (S. de). — Sur le dosage de la lécithine dans le lait. *C. R. Ac. Sc.*, CXXXIV, 1902, p. 1592.
30. BRACONNOT (H.). — Sur la nature des Champignons. *Ann. de Chim.*, LXXIX, 1811, p. 265.
31. BRACONNOT (H.). — Suite des recherches analytiques sur la nature des Champignons. *Ann. de Chim.*, LXXX, 1811, p. 272.
32. BRACONNOT (H.). — Nouvelles recherches analytiques sur les Champignons pour servir de suite à celles qui ont été insérées dans les tom. LXXIX et LXXX des Annales de Chimie. *Ann. de Chim.*, LXXXVII, 1813, p. 237.
33. BRACONNOT (H.). — Examen chimique des sporules de l'*Agaricus atramentarius*. *Ann. de Chim.*, (2), LXIX, 1838, p. 434.
34. BRAHM (C.). — Fette und Wachse. *ABDERHALDEN* (2), III, p. 1.
35. BRETIN, MANCEAU (P.) et REY. — Absorption du potassium par le *Penicillium glaucum* cultivé sur liquide de RAULIN additionné de doses croissantes d'azotate de potassium. *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 1931, p. 197.
36. BRETIN, MANCEAU (P.) et COCHET. — Métabolisme des sucres des phytostérines et des lécithines chez le *Penicillium glaucum* cultivé sur liquide type RAULIN additionné de doses croissantes d'azotate de potassium. *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 1931, p. 195.
37. BRIDEL (M.). — La réforme de la nomenclature de Chimie biologique. Etat de la question à la fin de 1926. *Bull. Soc. Chim.*

- biol.*, VIII, 1926, p. 1211.
38. BUISINE (A.). — Nouveau procédé de dosage de la glycérine. *C. R. Ac. Sc.*, CXXXVI, 1903, p. 1204.
39. BULL (H.). — Ueber die quantitative Bestimmung von Glycerin in fetten Oelen mittels Natriumglycerats. *Chem. Ztg.*, 1916, p. 690.
40. BULL (H.). — Détermination combinée de l'eau et des matières grasses contenues dans les substances organiques. *Chim. et Ind.* XXIV, 1930, p. 295.
41. CAMINADE (R.). — Sur quelques modifications apportées au dosage de la cholestérine par la méthode de WINDAUS. *Bull. Soc. Chim. biol.*, IV, 1922, p. 601.
42. CAMUS (L.). — De la lipase dans les cultures d'*Aspergillus niger*. *C. R. Soc. Biol.*, IV, 1897, p. 230.
43. CHAUMEIL (A.). — Dosage de la glycérine par l'acide iodique en présence de l'acide sulfurique. *Bull. Soc. Chim.*, (3), XXVII, 1902, p. 629.
44. CHERCHEFFSKY (N.). — *Analyse générale des corps gras et cires organiques*. Paris, J. B. Bailliére, 1903.
45. CHIAPPELLA (A. R.). — *Boletus Bellini*, Inzenga. *Chem. Centralbl.* (5), XXIII, 1907, p. 547.
46. CHODAT (R.) et CHUIT (P.). — Untersuchungen über *Lactarius piperatus*. *Chem. Centralbl.*, (4), I, (II), 1889, p. 144.
47. CLAUTRIAU (G.). — Les réserves hydrocarbonées des Thallophytes. *Miscel. biol. Stat. Zool. Wimereux*, Paris 1899, p. 114.
48. COCHET (P.). — Contribution à l'étude des phytostérols et des lécithines végétales. Réaction du *Penicillium glaucum* cultivé sur le liquide type de RAULIN renfermant des quantités croissantes d'azotate de potassium (métabolisme des phytostérols, des lécithines et des sucres). *Thèse Pharm.*, Lyon, 1930-1931, 50 p.
49. COMBES (R.). — *La Vie de la cellule végétale*. II. Paris, A. Colin 1929.
50. COPAUX (H.). — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXIII, 1921, p. 656.
51. COPPOCK (Ph. D.), SUBRAMANIAN (V.) et WALKER (Th. K.) — The mechanism of the degradation of fatty acids by mould fungi II. *Journ. Chem. Soc. London*, 1928, p. 1422.
52. COQUELET (O.). — Microdosage colorimétrique du cholestérol. *C. R. Soc. Biol.*, XCVII, 1927, p. 749.
53. COQUET (C. DE). — Microdosage par colorimétrie de la glycérine dans les vins sucrés. *Congrès intern. Vigne et Vin*. (Bordeaux, 21-24 juin 1928), 1929, p. 86.
54. COUPIN (H.). — Sur l'assimilation des alcools et des aldéhydes par le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, CXXXVIII, 1904, p. 389.
55. CRAMER (E.). — Cité d'après CZAPEK (57). I. p. 757.
56. CRÉPIN (A.). — Influence de l'acidité sur la nutrition minérale du *Sterigmatocystis nigra*. *Thèse Sciences*, Paris, 1932, 132 p.
57. CZAPEK (F.). — *Biochemie der Pflanzen*. 2<sup>e</sup> édit., Iéna, G. Fischer,

1913-1921.

58. DANGEARD (P. A.). — Recherches histologiques sur les Champignons. *Le Botaniste*, II, 1890-1891, p. 63.
59. DANGEARD (P. A.). — Recherches sur la structure du *Polyphagus Euglenae* et sa reproduction sexuelle. *Le Botaniste*, VII, 1900, p. 213.
60. DANGEARD (P. A.). — Mémoire sur la terminologie des éléments cellulaires et son application à l'étude des Champignons. *Le Botaniste*, XXII, 1931, p. 325.
61. DAUBNEY (C. G.) et MACLEAN (I. S.). — The carbohydrate and fat metabolism of yeast. IV. The nature of the phospholipins. *Biochem. Journ.*, XXI, 1927, p. 373.
62. DAUNEY (C. G.) et SMEDLEY-MACLEAN (I.). — Note on the insaponifiable matter of yeast fat. *Biochem. Journ.*, XXI, 1927, p. 869.
63. DE BARY (A.). — *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten*. Leipzig, W. Engelmann, 1866.
64. DE BARY (A.). — *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und Bakterien*. Leipzig, W. Engelmann, 1884.
65. DE CARO (Luigi). — L'énergie de croissance. XII. Rendement énergétique comparé de divers glucides dans le développement des moisissures. *Bull. Soc. Chim. biol.*, X, 1928, p. 456.
66. DELEANO (N. T.). — Zur Kenntniss des Desassimilation bei den Pflanzen. *Biochem. Zeitschr.*, XVII, 1909, p. 225.
67. DE LUCA (S.). — Recherches sur la formation de la matière grasse dans les olives. *C. R. Ac. Sc.*, LIII, 1861, p. 380.
68. DE LUCA (S.). — Sur la formation de la matière grasse dans les olives. *C. R. Ac. Sc.*, LV, 1862, p. 506.
69. DOBY (G. V.) et KERTESZ (Z.I.). — Enzyme und Salzionen. I. Saccharase Kalihungrigen *Penicillium*. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, CLXXXIX, 1930, p. 177.
70. DUBAQUIÉ. — Recherches sur les matières grasses des végétaux inférieurs. *Thèse Sciences*, Bordeaux, 1909, 88 p.
71. DUCLAUX (E.). — Sur la nutrition intracellulaire. (2<sup>e</sup> mémoire) *Ann. Inst. Pasteur*, III, 1889, p. 413.
72. ECHEVIN (R.) et CRÉPIN (A.). — Le dosage du soufre et du phosphore dans les tissus végétaux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, X, 1928, p. 1248.
73. EMERSON (W.H.) et DUMAS (H.N.). — The Esterification of Certain Higher Fatty Acids on Evaporation of Their Alcoholic Solution. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, XXXI, 1909, p. 949.
74. ERRERA (L.). — L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. *Thèse d'agrégation*, Bruxelles, 1882.
75. ERRERA (L.). — Sur le glycogène chez les Basidiomycètes. *Rec. Inst. Bot. Bruxelles*, I, 1906, p. 77.
76. ERRERA (L.). — Les réserves hydrocarbonées des Champignons. *Rec. Inst. bot. Bruxelles*, I, 1906, p. 129.
77. FAMIN (A.). — Action de la température sur les caractères morphologiques du *Rhizopus nigricans*. *Mémoire diplôme études*

sup. Paris 1928.

78. FELLENBERG (Th. v.). — Bestimmung organischer Stoffe durch Chromsäure Oxydation. *Biochem. Zeitschr.*, CLXXXVIII, 1927, p. 365.
79. FICINUS (O.). — Ueber den Fettgehalt des Mutterkorns. *Arch. der Pharm.*, (3), III, 1873, p. 219.
80. FLASCHENTRÄGER (B.). — Microdosage de la glycérine dans les graisses d'après la méthode de ZEISEL et FANTO. *Chim. et Ind.*, XXIII, 1930, p. 1233.
81. FLEURY (G.). — Sur deux produits de l'agaric blanc. *Journ. Pharm. Chim.*, (4) XI, 1870, p. 202.
82. FLEURY (G.). — Recherches sur l'agaric blanc. *Journ. Pharm. Chim.*, (4), XXI, 1875, p. 279.
83. FLIEG (O.). — Fett und Fettsäuren als Material für Bau und Betriebsstoffwechsel von *Aspergillus niger*. *Jahrb. f. wiss. Botan.*, LXI, 1922, p. 24.
84. FLUECKIGER (F. A.). — *Pharmakognosie des Pflanzenreiches*. 3<sup>e</sup> édit., Berlin, R. Gaertner, 1891.
85. FODOR (A.). — Sterine. ABDERHALDEN (2), VIII, p. 473.
86. FOURNEAU et PIETTRE. — Analyse immédiate des lipoides complexes par alcoolise. *Bull. Soc. Chim.*, (4), XI, 1912, p. 805.
87. FROESCHL (N.) et ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XX. Mitteilung. Ueber *Omphalia Campanella* Batsch, *Marasmius scorodoni* Fr., *Boletus cavipes* Opat und *Calocera viscosa* Pers. *Monatsh. f. Chem.*, L, 1928, p. 201.
88. FREUDENBERG (K.). — *Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe*. Berlin, J. Springer, 1920.
89. FREY (A.). — La formation des cellules géantes du *Sterigmatozystis nigra*. *Rev. gén. Bot.*, XXXIX, 1927, p. 277.
90. FRITSCH (K.). — Beiträge zur chemischen Kenntnis einiger Basidiomyceten. *Arch. der Pharm.* (3), XXVII, 1889, p. 193.
91. FUCHS (D.). — Cerebroside. ABDERHALDEN (2), VIII, p. 469.
92. GANSER (J.B.). — Untersuchung der Bestandtheile des Mutterkorns, ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften, sowie ihre medicinischen Wirkung; unter Berücksichtigung der älteren Arbeiten sowohl, als auch neueren Angaben von W. T. WENZEL über Ecbinol, Ergotin, und Ergotsäure. *Arch. der Pharm.*, (2), CXLIV, 1870, p. 195.
93. GARNIER (Ch.). — Recherche de la lipase dans les cultures de quelques espèces de *Sterigmatocystis*. *C. R. Soc. Biol.* LV, 1903, p. 1490.
94. GAEUMANN (E.). — *Vergleichende Morphologie der Pilze*. Jena, G. Fischer, 1926.
95. GAUTRELET (E.). — Transformation partielle des matières grasses alimentaires en mannites par les digestions pepsique et pancréatique *in vitro*. *C. R. Ac. Sc.*, CXLIX, 1909, p. 1150.
96. GÉRARD (E.). — Sur les matières grasses de deux Champignons appartenant à la famille des Hyménomycètes. *Bull. Soc. Mycol. France*, VI, 1890, p. 115.
97. GÉRARD (E.). — Sur les matières grasses de deux Champignons

- appartenant à la famille des Hyménomycètes. *Journ. Pharm. Chim.*, (5), XXI, 1890, p. 408.
98. GÉRARD (E.). — Sur les matières grasses de deux Champignons appartenant à la famille des Hyménomycètes. *Journ. Pharm. Chim.*, (5), XXIII, 1891, p. 7.
  99. GÉRARD (E.). — Cholestérine des Champignons. *Bull. Soc. Mycol. France*, VIII, 1892, p. 169.
  100. GÉRARD (E.). — Sur les cholestérines végétales. *C. R. Ac. Sc.*, CXIV, 1892, p. 1544.
  101. GÉRARD (E.). — Sur les cholestérines des Cryptogames. *C. R. Ac. Sc.* CXXI, 1895, p. 723.
  102. GÉRARD (E.). — Sur les cholestérines des Champignons. *Bull Soc. Mycol. France*, XIII, 1897, p. 19.
  103. GÉRARD (E.) et DAREXY (P.). — Recherches sur les matières grasses de la levure de bière. *Bull. Soc. Mycol. France*, XIII, 1897, p. 183.
  104. GIARD (A.). — *L'Isaria densa* (Link) Fries, Champignon parasite du Hanneton commun (*Melolontha vulgaris* L.) *Bull. Scient. France et Belgique*, XXIV, 1892, p. I.
  105. GIRARDIN (R.) et SPACH (E.). — Sur le microdosage pondéral du cholestérol. *Bull. Soc. Chim. biol.* VIII, 1926, p. 813.
  106. GOBLEY. — Analyse du Champignon comestible des couchés. *Journ. Pharm. Chim.*, XXIX, 1856, p. 81.
  107. GÖPPERT (H.-R.). — *Der Hausschwamm*. Breslau, J.-U. Kern 1885.
  108. GORIS (A.) et MASCRÉ (M.). — Sur la composition de quelques Champignons supérieurs. *C. R. Ac. Sc.*, CLIII, 1911, p. 1082.
  109. GOUPIL (R.). — Recherches sur les composés phosphorés formés par l'*Amylomyces Rouxii*. *C. R. Ac. Sc.*, CLVI, 1913, p. 959.
  110. GOUPIL (R.). — Recherches sur les matières grasses formées par l'*Amylomyces Rouxii*. *C. R. Ac. Sc.*, CLVIII, 1914, p. 522.
  111. GRAFE (V.). — *Ernährungsphysiologisches Praktikum der höheren Pflanzen*. Berlin, Paul Parey, 1914.
  112. GRIGAUT (A.). — Procédé colorimétrique de dosage de la cholestérine dans l'organisme. *C. R. Soc. Biol.*, LXVIII, 1910, p. 791.
  113. GRIMBERT et LAUDAT (M.). — Sur le dosage des lipoïdes dans le sérum sanguin. *C. R. Ac. Sc.*, CLV, 1912, p. 974.
  114. GRUENHUT (L.). — Erkennung und Bestimmung der Sterine in Fetten und Oelen. *Zeitschr. f. anal. Chem.*, LIV, 1915, p. 55.
  115. GUEGEN (F.). — Recherches sur le *Penicillium glaucum*. *Bull. Soc. Mycol. France*, XIV, 1898, p. 201 et XV, 1899, p. 15.
  116. GUICHARD (P.). — Composition et analyse de la levure. *Bull. Soc. Chim.*, (3), XI, 1894, p. 230.
  117. GUICHARD (P.). — Contribution à l'analyse des Champignons. *Bull. Soc. Mycol. France*, XI, 1895, p. 88.
  118. GUILLIERMOND (A.). — Contribution à l'étude de la formation des âsques et de l'épiplasma des Ascomycètes. *Rev.*

- gén. Bot.*, XVI, 1904, p. 49.
119. GUILLIERMOND (A.). — Recherches sur le chondriome chez les Champignons et les Algues. *Rev. gén. Bot.*, XXVII, 1915, p. 193, 236, 271, 297.
  120. GUILLIERMOND (A.). — Observations vitales sur le chondriome d'un *Saprolegnia*. *C. R. Ac. Sc.*, CLXX, 1920, p. 1329.
  121. GUILLIERMOND (A.). — Nouvelles observations cytologiques sur les Saprolégniacees. *La Cellule*, XXXII, 1922, p. 429.
  122. HALLER (A.). — Sur l'alcoololyse des corps gras. *C. R. Ac. Sc.*, CXLIII, 1906, p. 657.
  123. HALPHEN (G.). — *Huiles et Graisses végétales comestibles*. Paris, Ch. Béranger, 1912.
  124. HANUS (J.) et STOCKY (A.). — Ueber die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf Butter. *Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genussmitt.*, III, 1900, p. 606.
  125. HARTMANN (E.) et ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XIX. Mitteilung. Ueber *Polyporus pinicola* Fr. *Monatsh. f. Chem.*, L, 1928, p. 193.
  126. HARTSEN (F.A.). — Beiträge zur organischen Chemie. *Chem. Centralbl.*, (4), IV, 1873, p. 204.
  127. HÉE (A.). — Contribution à l'étude de la respiration chez les végétaux. *Thèse Sciences*, Paris, 1930, 244 p.
  128. HEIDUSCHKA (A.) et LINDNER (H.). — Ueber den Ergosterin-gehalt der Hefe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, CLXXXI, 1929, p. 15.
  129. HEIDUSCHKA (A.) et NEUMANN (G.). — Ueber eine neue Bestimmungsmethode des Gehaltes an Wasser und Rohfett in fettreichen Stoffen mittels Trichloräthylens. *Chem. Ztg.*, LIV, 1930, p. 271.
  130. HEINRICH (W.) et ZELLNER (J.). — Zur Chemie des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria*). *Monatsh. f. Chem.*, XXV, 1904, p. 537.
  131. KENNEBERG (W.). — Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. *Zeitschr. f. Spiritind.*, XXVII, 1904, p. 96, 105, 116, 126, 135, 146, 160, 173, 182, 194, 205, 213, 226, 239.
  132. HERRMANN. — Cité d'après BISSINGER (16.)
  133. HIESTAND (O.). — Historische Entwicklung unserer Kenntnis der Phosphatiden. Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Phosphatiden. *Dissert.* Zurich. 1906.
  134. HINGLAIS (Marguerite). — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes de divers vertébrés. *Thèse Sciences*, Paris 1928.
  135. HINSBERG (O.) et ROSS (E.). — Ueber einige Bestandteile der Hefe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XXXVIII, 1903, p. 1.
  136. HINSBERG (O.) et ROSS (E.). — Nachtrag zu der Abhandlung über einige Bestandteile der Hefe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XLII, 1904, p. 189.
  137. HOFMANN (J.). — Ueber die chemischen Bestandteile einiger Pilze. *Dissert.*, Zurich, 1901.

138. HOPPE-SEYLER (F.). — Ueber Lecithin in der Hefe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, III, 1879, p. 374.
139. HUSEMANN (A.), HILGER (A.) et HUSEMANN (T.). — *Pflanzenstoffe*. Berlin, J. Springer, 1882.
140. IKEGUCHI (T.). — Ueber die Pilzsterine I. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XCII, 1914, p. 257.
141. IKEGUCHI (T.). — A new sterol. *Journ. of biol. Chem.*, XL, 1919, p. 175.
142. INABA (R.). — Ueber die Fettbestimmung der Fäces und einiger Nahrungsmittel nach neuen Methode von KUMAGAWA-SUTO. *Biochem. Zeitschr.*, VIII, 1908, p. 348.
143. ISCOVESCO (H.). — Du dosage et de l'extraction des lipoides saponifiables. *C. R. Soc. Biol.*, LXXI, 1911, p. 700.
144. ISCOVESCO (H.). — Dosage précis ou clinique de la cholestérine du sérum sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, LXXII, 1912, p. 318.
145. ISCOVESCO (H.). — Morcellement des différents lipoides constitutifs des organes. Technique générale. *C. R. Soc. Biol.*, LXXII, 1912, p. 858.
146. ISCOVESCO (H.). — Les lipoides du sang. Préparation des lipoides des stroma globulaires. *C. R. Soc. Biol.*, LXXII, 1912, p. 920.
147. ISCOVESCO (H.). — Les lipoides du sang. Dosages comparatifs des lipoides des globules frais et du sérum. *C. R. Soc. Biol.*, LXXII, 1912, p. 985.
148. IURACEC (A.). — Beiträge zur Studium der Lipase von *Aspergillus niger* (Van Tiegh.). Das PH-Wirkungsoptimum auf Glyceriden von Fettsäuren. Erste Mitteilung. I tiré à part, 8 p., extrait de *Bull. Sect. scient. Acad. roumaine*, 1930, n° 4-5.
149. IURACEC (A.). — Beiträge zur Studium der Lipase von *Aspergillus niger* (van Tiegh.). Das PH-Wirkungsoptimum auf Glyceriden von Fettsäuren. Zweite Mitteilung. I tiré à part, 8 p., extrait de *Bull. Sect. scient. Acad. roumaine.*, 1930, n° 7.
150. IVANOW (S.). — Ueber den Stoffwechsel beim Reifen Ölhaltiger-Samen mit besonderer Berücksichtigung der Oelbindungsprozesse. *Beih. Botan. Centralbl.*, XXVIII, 1912, p. 159.
151. IVANOW (S.). — Ueber die Verwandlung des Oels in der Pflanze. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, L, 1912, p. 373.
152. JAHNS. — Zur Kenntnis der Agaricinsäure. *Arch. der Pharm.* (3), XXI, 1883, p. 260.
153. KAISER. — Chemische Untersuchung des *Agaricus muscarius*. *Dissert.* Göttingen, 1862.
154. KALOYEREAS (S.), CRUESS (X.V.) et LESLEY (B.E.). — Deux nouvelles méthodes pour le dosage de l'huile dans les olives. *Journ. Pharm. Chim.* (8), VII, 1928, p. 407.
155. KIESEL (A.). — Recherches sur l'action de divers acides et sels acides sur le développement de l'*Aspergillus niger*. *Ann. Inst. Pasteur*, XXVII, 1913, p. 391.
156. KIESEL (A.). — Untersuchungen über Protoplasma. Ueber die chemischen Bestandteile des Plasmodiums von *Reticularia*

- lycoperdon. Zeitschr. f. physiol. Chem.*, CL, 1925, p. 149.
157. KIESEL (A.). — Untersuchungen über Protoplasma. II. Ueber die chemischen Bestandteile des Plasmodiums von *Lycogala epidendron* und die Veränderung derselben während der Sporendifferenzierung. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, CLXIV, 1927, p. 103.
  158. KIESEL (A.). — Die Plasmodien der Myxomyceten als Objekt der chemischen Protoplasmauntersuchungen. *Protoplasma*, VI, 1929, p. 332.
  159. KOHL (F. G.). — Ueber das Glycogen und einige Erscheinungen bei der Sporulation der Hefe. *Ber. d. d. bot. Ges.*, XXV, 1907, p. 74.
  160. KOHLRAUSCH. — Ueber die Zusammensetzung einiger essbaren Pilze. *Dissert.*, Göttingen, 1867.
  161. KOENIG (J.). — *Die menschliche Nahrungs- und Genussmittel*. 3<sup>e</sup> édit. T. II, p. 751, Berlin, J. Springer, 1889.
  162. KOENIG (J.), SPIECKERMANN (H.) et BREMER (W.). — Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. I. Die fettverzehrenden Kleinwesen. *Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. - u. Genussmitt.*, IV, 1901, p. 721 et 767.
  163. KONRAD (P.). — Notes critiques sur quelques Champignons du Jura. (Cinquième série). *Bull. Soc. Mycol. France*, XLVII, 1931, p. 129.
  164. KUESSER (K.). — Physiologische Untersuchungen über die Ernährung von *Penicillium glaucum* durch Fette. *Bot. Arch.*, XXIII, 1928, p. 197.
  165. KUMAGAWA (M.). — Fettbestimmung nach KUMAGAWA-SUTO. *ADBERHALDEN* (1), V (1), p. 477.
  166. KUMAGAWA (M.) et SUTO (K.). — Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen im tierischen Material nebst der Kritik einiger gebräuchlichen Methoden. *Biochem. Zeitschr.*, VIII, 1908, p. 212.
  167. KUSTCHER (F.) et LOHMANN. — Die Endprodukte der Pankreas und Hefeselbstverdauung. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XXXIX, 1903, p. 159.
  168. LABORDE (J.). — Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle l'*Eurotiopsis Gayoni*. *Ann. Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 1.
  169. LAUDAT (M.). — Etude analytique des lipoïdes et des matières grasses du sérum sanguin. *Thèse Pharm.*, Paris 1913.
  170. LAURENT-GÉRARD (P.). — Dosage colorimétrique en lumière monochromatique de la cholestérine, du glucose, de l'acide urique, et de l'hémoglobine. *C. R. Soc. Biol.*, XCVIII, 1928, p. 1325.
  171. LAXA (O.). — Ueber die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen. *Arch. f. Hyg.*, XLI, 1902, p. 119.
  172. LEFORT (J.). — Etudes chimiques du Champignon comestible suivies d'observations sur sa valeur nutritive. *Journ. Pharm. Chim.*, XXIX, 1856, p. 190.
  173. LEFORT (J.). — Analyse chimique de la truffe comestible.

- Tuber cibarium* Bull. Journ. Pharm. Chim., XXXI, 1857, p. 440.
174. LE BRETON (E.). — Sur la présence et le dosage dans le phosphore lipoidique total éthéro-soluble de composés phosphorés autres que les phosphatides Bull. Soc. Chim. biol., III, 1921, p. 539.
  175. LEMARCHANDS (J.). — Contribution à l'étude des transformations et plus spécialement à la saponification des réserves grasses dans les graines au cours de la germination. Thèse Sciences, Lyon, 1929, 128 p.
  176. LEMELAND (P.). — Recherches sur le dosage du phosphore lipoidique total dans le sérum sanguin. C. R. Soc. Biol., LXXXIV, 1921, p. 446.
  177. LEMELAND (P.). — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. biol., III, 1921, p. 134.
  178. LEMELAND (P.). — Recherches chimiques et physiologiques sur le dosage des lipoïdes. Bull. Soc. Chim. biol., IV, 1922, p. 300.
  179. LEMELAND (P.). — Méthode de dosage des acides gras totaux et de l'insaponifiable dans les tissus et humeurs de l'organisme. C. R. Soc. Biol., LXXXVII, 1922, p. 500.
  180. LEMELAND (P.). — Recherches sur le dosage des lipoïdes dans le sang et les tissus. Bull. Soc. Chim. biol., V, 1923, p. 110.
  181. LENDNER (A.). — Des influences combinées de la lumière et du substratum sur le développement des Champignons. Thèse Genève, 1897, 64 p.
  182. LEPESCHKIN (W.W.). — Ueber die chemische Zusammensetzung des Protoplasmas des Plasmodiums. Ber. d. d. bot. Ges., XLI, 1923, p. 179.
  183. LEWIS (A. H.). — The séparation of fatty acids. Biochem. Journ., XX, 1926, p. 1356.
  184. LEWKOWITSCH (J.) et BONTOUX (E.). — Technologie et analyse chimique des huiles, graisses et cires. T. I. 2<sup>e</sup> édition, Paris, Dunod, 1929.
  185. LING (S. M.). — The détermination of cholesterol in small amounts of blood. Journ. of Biol. Chem., LXXVI, 1928, p. 361.
  186. LOEW (O.). — Ueber den Nachweis des Lecithins. Arch. f. ges. Physiol., XIX, 1879, p. 342.
  187. LOEW (O.). — Cité d'après ZELLNER (340).
  188. LUDWIG (H.). — Chemische Bestandtheile der Pilze. Arch. der Pharm., (2), CX, 1862, p. 193.
  189. LUDWIG (H.). — Chemisches über das Mutterkorn. Arch. der Pharm., (2), XIV, 1863, p. 193.
  190. LUDWIG (H.). — Ueber einige Bestandtheile der Hirschtrüffel (*Elaphomyces granulatus*). Arch. der Pharm., (2), XXXIX, 1869 p. 24.
  191. LUDWIG (H.). — Vorkommen von Cholesterin im Mutterkorn. Arch. der Pharm., (2), XXXVII, 1869, p. 36.

192. MANCEAU (P.). — Réactions du *Penicillium glaucum* cultivé sur le liquide type de RAULIN additionné de doses croissantes de chlorure de magnésium. Métabolisme des sucres et des phytostérols. *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 1931, p. 1036.
193. MANCEAU (P.). — Réactions du *Penicillium glaucum* cultivé sur le liquide type de RAULIN, additionné de doses croissantes de chlorure de calcium; métabolisme des sucres. *C. R. Soc. Biol.*, CVII, 1931, p. 633.
194. MANGIN (L.). — Formation normale et formation désordonnée des conidies chez les Aspergillacées. *C. R. Ac. Sc.*, CXLVII, 1908, p. 260.
195. MARGEWICZ (K.). — Essbare Pilze, Bestimmung der Menge der Nährstoffe in ihnen. *Dissert.* St. Pétersbourg, 1883, 54 p.
196. MARSCHALL. — Cité d'après CZAPEK (57), I, p. 758.
197. MASING (E.). — Ueber das Harz des Lärchenschwamms. *Arch. der Pharm.*, (3), VI, 1875, p. 111.
198. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Dosage de la cholestérine par les méthodes de KUMAGAWA-SUTO et de WINDAUS combinées. *C. R. Soc. Biol.*, LXXII, 1912, p. 362.
199. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur la teneur, des tissus en lipoides. *Journ. Physiol. et Pathol. gén.*, XV 1913, p. 510.
200. MAZÉ (P.). — Recherches sur les modes d'utilisation des aliments ternaires par les végétaux et les microbes. (1<sup>er</sup> mémoire). *Ann. Inst. Pasteur.*, XVI, 1902, p. 195.
201. MAZÉ (P.). — Recherches sur les modes d'utilisation du carbone ternaire par les végétaux et les microbes. (2<sup>e</sup> mémoire). *Ann. Inst. Pasteur.*, XVI, 1902, p. 346.
202. MAZÉ (P.). — Recherches sur le mode d'utilisation du carbone ternaire par les végétaux et les microbes. (3<sup>e</sup> mémoire.) *Ann. Inst. Pasteur.*, XVI, 1902, p. 433.
203. MILLER (E. C.). — A Physiological Study of the Germination of *Helianthus annuus*. *Ann. of Bot.*, XXIV, 1910, p. 693.
204. MILLER (E. C.). — A Physiological Study of the Germination of *Helianthus annuus*. II, The Oily Reserve. *Ann. of Bot.*, XXVI, 1912, p. 890.
205. MILROY (J. A.). — A micromethod for the determination of the fats und lipins of blood. *Biochem. Journ.*, XXII, 1928, p. 1206.
206. MJOEN (A.). — Zur Kenntnis des in *Secale cornutum* enthaltenen fetten Oels. *Arch. der Pharm.*, (3), XXXIV, 1896, p. 278.
207. MOLLIARD (M.). — Sur la signification physiologique de l'acide oxalique. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXII, 1919, p. 351.
208. MOLLIARD (M.). — Action des acides sur la composition des cendres du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, CLXIX 1919, p. 990.
209. MOLLIARD (M.). — Influence de la réaction du milieu sur la respiration du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXIII 1920, p. 50.

210. MOLLIARD (M.). — Influence d'une dose réduite de potassium sur les caractères physiologiques du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, CLXX, 1920, p. 949.
211. MOLLIARD (M.). — Rôle du potassium dans le chimisme et les fonctions reproductrices des Champignons. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXIII, 1921, p. 100.
212. MOLLIARD (M.). — Recherches calorimétriques sur l'utilisation de l'énergie respiratoire au cours du développement d'une culture de *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXVII, 1922, p. 219.
213. MOLLIARD (M.). — Sur une nouvelle fermentation acide produite par le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXIV, 1922, p. 881.
214. MOLLIARD (M.). — Sur le déterminisme de la formation des conidies chez le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.* CLXXVI, 1923, p. 1857.
215. MOLLIARD (M.). — Retentissement de la composition minérale du milieu nutritif sur la structure du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXVIII, 1924, p. 1865.
216. MOLLIARD (M.) et COUPIN (H.). — Sur les formes tératologiques du *Sterigmatocystis nigra* privé de potassium. *C. R. Ac. Sc.*, CXXXVI, 1903, p. 1695.
217. MOLLIARD (M.) et COUPIN (H.). — Influence du potassium sur la morphologie du *Sterigmatocystis nigra*. *Rev. gén. Bot.*, XV, 1903, p. 401.
218. N. — Action des amines aromatiques sur les acides gras. Cité d'après COFFIGNIER (Ch). *Rev. Chim. ind.*, XXVII, 1918, p. 194.
219. N. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, V, 1923, p. 534.
220. N. — La réforme de la nomenclature de chimie biologique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, VI, 1924, p. 905.
221. N. — 9<sup>e</sup> Conférence internationale de chimie pure et appliquée. *Bull. Soc. Chim. biol.*, X, 1928, p. 1279.
222. NAEGELI (C. v.). — Ueber vie Fettbildung bei den niederen Pilzen. *Journ. f. prakt. Chem.*, (2), XXI, 1880, p. 97.
223. NAEGELI (C. v.). — *Untersuchungen über niedere Pilze*. München und Leipzig, R. Oldenburg, 1882.
224. NAEGELI (C. v.) et LOEW (O.). — Ueber die chemische Zusammensetzung der Hefe. *Journ. f. prakt. Chem.*, (3), XVII, 1878, p. 403.
225. NEVILLE (L.). — Cité d'après SMEDLEY-MACLEAN et THOMAS (290).
226. NICLOUX (M.). — Dosage et analyse organique de très petites quantités de glycérine. *Bull. Soc. Chim.*, (3), XXIX, 1903, p. 245.
227. OBATON (F.). — Evolution du Mannitol chez les végétaux. *Thèse Sciences*, Paris, 1929, 106 p.
228. OHTA (K.). — Ueber die fettzehrende Wirkungen der Schimmelpilze nebst dem Verhalten des Organfettes gegen Faulnis. *Biochem. Zeitschr.*, XXXI, 1911, p. 177.

229. OGAWA (I.). — Das fettspaltende Ferment der Takadiastase. *Biochem. Zeitschr.*, CIL, 1924, p. 216.
230. OPITZ (E.). — Ueber das Fett aus *Amatina pantherina* und *Boletus luridus*. *Arch. der Pharm.*, (3), XXIX, 1891, p. 290.
231. OTTOLENGHI (D.). — Sull'ergosterina. *Atti Accad. Lincei*, (5), XIV, 1905, (2), p. 697.
232. PAYEN. — Mémoire sur le développement des végétaux. (3<sup>e</sup> mémoire.) *Mémoires des savants étrangers*, IX, 1846, p. 1.
233. PEARSON (L. K.). et RAPER (H. S.). — The influence of temperature on the nature of the fat formed by living organisms. *Biochem. Journ.*, XXI, 1927, p. 875.
234. PENAU (H.) et TANRET (G.). — Sur un stérol dextrogyre de la levure, le zymostérol. *Journal. Pharm. Chim.*, (8), X, 1929, p. 193.
235. PERRIER (A.). — Sur la formation et le rôle des matières grasses chez les Champignons. *C. R. Ac. Sc.*, CXL, 1905, p. 1052.
236. PETTENKOFER. — Chemische Versuche mit Mutterkorn, als Nachtrag zur vorstehenden Abhandlung. *Repert. f. d. Pharm.*, III, 1817, p. 65.
237. POLICARD (A.) et MANGENOT (G.). — Recherches cytologiques sur l'état de l'huile dans les graines oléagineuses. La graine mûre. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXVI, 1923, p. 1841.
238. PONTILLON (Ch.). — Sur l'existence de résines chez le *Sterigmatocystis nigra* V. Tgh. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXXVIII, 1929, p. 413.
239. PONTILLON (Ch.). — Sur la pigmentation du *Sterigmatocystis nigra* cultivé sur milieux gras. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXXVIII, 1929, p. 1184.
240. PONTILLON (Ch.). — Variations des acides gras du *Sterigmatocystis nigra* en fonction de la composition minérale du liquide de culture. *C. R. Ac. Sc.*, CXCI, 1930, p. 1148.
241. PONTILLON (Ch.). — Variations des insaponifiables et du phosphore lipidique du *Sterigmatocystis nigra* en fonction de la composition minérale du liquide de culture. *C. R. Ac. Sc.*, CXCI, 1930, p. 1367.
242. PRJANISCHNIKOF (N. D.) et TELNOF (S. M.). — Ueber die Bestimmung des Wassers und des Rohfettgehaltes in fettreichen Stoffen. *Zeitschr. f. anal. Chem.*, LXXVI, 1929, p. 161.
243. RAHN (O.). — Die Zersetzung der Fette. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), XV, 1905, p. 53 et 422.
244. RATHJE (A.). — Neuere Untersuchungen der Fett von *Lyco-podium*, *Secale cornutum*, *Semen Arecae*, und *Semen Aleuritis cordatae*. *Arch. der Pharm.*, CCXLVI, 1908, p. 692.
245. RAVENNA (A.). — Nouvelle méthode de dosage de la glycérine à l'aide du permanganate de potassium. *Ann. de Chim. anal.*, (2) XII, 1930, p. 13.
246. RAVENNA (C.) et PIGHINI (O.). — Sul metabolismo delle muffe. Ricerche sull'*Aspergillus fumigatus*. *Atti Accad. Lincei*, (5), XIX, 1910, p. 312.
247. RAYBAUD (L.). — Influence du milieu sur les Mucorinées.

- Thèse Sciences*, Paris, 1911, 256 p.
248. RAYBAUD (L.). — Influence du milieu sur les Champignons inférieurs. *Rev. gén. Bot.*, XXIV, 1912, p. 392.
  249. REINDEL (Fr.). — Ueber das Ergosterin der Hefe. III. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.*, CCCCLXVI, 1928, p. 131.
  250. REINDEL (Fr.) et DETZEL (A.). — Ueber das Ergosterin der Hefe. IV. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.*, CCCCLXXV, 1929, p. 78.
  251. REINDEL (Fr.) et WALTER (E.). — Ueber das Ergosterin der Hefe. II. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.*, CCCCLX, 1928, p. 112.
  252. REINDEL (Fr.), WALTER (E.) et RAUCH (H.). — Ueber das Ergosterin der Hefe. I. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.*, CCCCLII, 1927, p. 34.
  253. REINDEL (Fr.) et WEICHMANN (A.). — Zur Kenntnis des Zymosterins. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.* CCCCLXXV, 1929, p. 86.
  254. REINKE (J.). — Ueber die Zusammensetzung des Protoplasma von *Aethalium septicum*. *Bot. Ztg.*, XXXVIII, 1880, p. 815.
  255. REINKE (J.) et RODEWALD (H.). — Die chemische Zusammensetzung von *Aethalium septicum*. *Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Göttingen* II, 1881.
  256. REINKE (J.) et RODEWALD (H.). — Ueber Paracholesterin aus *Aethalium septicum*. *Ann. d. Chem. u. d. Pharm.*, CCVII, 1881, p. 229.
  257. RÉMOND et LASALLE (H.). — Production de cholestérine par un Champignon. *C. R. Soc. Biol.*, XCIII, 1925, p. 426.
  258. RIEGEL (E.). — Beitrag zur Untersuchung der Familie der Schwämme. *Jahrb. f. prakt. Pharm.*, VII, 1843, p. 222.
  259. ROBERT (Th.). — Influence du calcium sur le développement et la composition minérale de l'*Aspergillus niger*. *C. R. Ac. Sc.*, CLI, 1911, p. 1175.
  260. ROBERT (Th.). — Mode de fixation du calcium par l'*Aspergillus niger*. *C. R. Ac. Sc.*, CLIV, 1912, p. 1308.
  261. ROBERT (Th.). — Recherches sur le rôle physiologique du Calcium chez les Végétaux. *Thèse Sciences*, Paris, 1915.
  262. ROSENFELD (G.). — Fettbestimmung in Organen. *ABDERHALDEN* (1), II, p. 328.
  263. ROUGE (E.). — Le *Lactarius sanguifluus* et la lipase. *Centralbl. f. Bakt.*, (I), XVIII, 1907, p. 403 et 587.
  264. ROUSSY (A.). — Sur la vie des Champignons en milieux gras. *C. R. Ac. Sc.*, CXLIX, 1909, p. 482.
  265. ROUSSY (A.). — Sur la vie des Champignons dans les acides gras. *C. R. Ac. Sc.*, CLI, 1911, p. 884.
  266. RUBNER. — Ueber Spaltung und Zersetzung von Fetten und Fettsäuren im Boden und in Nährflüssigkeiten. *Arch. f. Hyg.*, XXXVIII, 1900, p. 67.
  267. SAKAMURÀ (T.). — Experimentelle Studien über die Blasen-zellbildung bei *Aspergillus Oryzae*. *Journ. Fac. Sc. Hokkaid Imp. Univ. Ser. V (Bot.)*, I, 1930, p. 1.
  268. SCHENKER (R.). — Zur Kenntnis der Lipase von *Aspergillus niger* (v. Tgh.) *Dissert.* Basel, 1921, 34 p. in-8°.

269. SCHERER (H.). — Ueber Phytosterine und einige fette Oele. *Dissert.* Strasburg, 1909, 63 p.
270. SCHINDELMEISER (J.). — Enzyme im Mutterkorn. *Apothekerzeitung*, XXIV, 1919, p. 837.
271. SCHMIDT (R. H.). — Ueber Auhnahme und Verarbeitung von fetten Oelen durch Pflanzen. *Flora*. IL, 1891, p. 300.
272. SCHMIEDER (J.). — Ueber die chemischen Bestandtheile des *Polyporus officinalis*. *Arch. der Pharm.*, CCXXIV, 1886, p. 641.
273. SCHNELL (E.). — Die auf Produkten der Landwirtschaft und der landwirtschaftlichen Gewerbe vorkommenden *Oospora* (*Oidium*) *lactis*-Varietäten. *Centralbl. f. Bakt.*, (II), XXXV, 1912, p. 1.
274. SCHRADER. — Cité par ZOPF (354), p. 138.
275. SCHREIBER (K.). — Fettzersetzung durch Mikroorganismen. *Arch. f. Hyg.*, XLI, 1902, p. 328.
276. SCHULZE et FRANKFURT. — Cité d'après CZAPEK (57), I, p. 781.
277. SCURTI (F.). — Sulla formazione del grasso nei frutti oléaginosi. (IV) Ricerche sperimentali eseguite sulla fillirea (*Phillyrea media*). *Rendiconti della Societa chimica di Roma* (2) IV, 1912, p. 300.
278. SCURTI (F.). — Formazione del grasso nel sughero (V.). Ricerche sperimentali eseguite sul sughero di sambuco (*Sambucus nigra*). *Rendiconti della Societa chimica di Roma*. (2), IV, 1912, p. 364.
279. SCURTI (F.) et FORNAINI (M.). — Sulla formazione del grasso nei frutti oleaginosi (III) Ricerche sperimentali eseguite sulle foglie di Ligustro. *Ann. Staz. chim. agr. Sper. Roma* (2), V, 1912, p. 223.
280. SCURTI (F.) et TOMMASI (G.). — Sulla formazione del grasso nei frutti oléaginosi. *Rendiconti della Societa chimica di Roma* (2) III, 1911, p. 69.
281. SCURTI (F.) et TOMMASI (G.). — Sulla formazione del grasso nei frutti oleaginosi (II) Ricerche sperimentali eseguite sul ligustro. *Rendiconti della Societa chimica di Roma*, III, 1911, p. 358.
282. SCURTI (F.) et TOMMASI (G.). — Formazione del grasso nel sughero (VI) Ricerche sperimentali eseguite sulli foglice di Sambuco. *Rendiconti della Societa chimica di Roma*. (2) IV, 1912, p. 370.
283. SEDLMAYER. — Cité d'après DAUBNEY et SMEDLEY-MACLEAN (61).
284. SEYNES (J. de). — Expériences physiologiques sur le *Penicillium glaucum*. *Bull. Soc. bot. France*, XIX, 1872, p. 107.
285. SHIMIDSU (Y.). — Ein Beitrag zur KUMAGAWA-SUTOSchen Fettbestimmungs-Methode. *Biochem. Zeitschr.*, XXVIII, 1910, p. 237.
286. SIEBER (N.). — Beiträge zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Schimmelpilze. *Journ. f. prakt. Chem.*, (2), XXIII, 1881, p. 412.
287. SMELDEY-MACLEAN (I.). — The conditions influencing the

- formation of fat by the yeast cell. *Biochem. Journ.*, XVI, 1922, p. 370.
288. SMEDLEY-MACLEAN (I.). — The isolation of a second sterol from yeast-fat. *Biochem. Journ.*, XXII, 1928, p. 22.
  289. SMEDLEY-MACLEAN (I.) et HOFFERT (D.). — The carbohydrate and fat metabolism of yeast. III. The nature of the intermediate stage. *Biochem. Journ.*, XX, 1926, p. 343.
  290. SMEDLEY-MACLEAN (I.) et THOMAS (E. M.). — The nature of yeast fat. *Biochem. Journ.*, XIV, 1920, p. 483.
  291. SPIECKERMANN (A.). — Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze. I. Der Abbau des Glycerins und die Aufnahme der Fette in die Pilzzelle. *Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genussmitt.*, XXIII, 1912, p. 305.
  292. SPIECKERMANN (A.). — Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze II. Der Abbau der Fettsäuren. *Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genussm.*, XXVII, 1914, p. 93.
  293. STAUDINGER (H.), FROST (W.) et REUSS (E.-W.). — *Introduction à l'analyse organique qualitative*. Paris, Dunod, 1930.
  294. STOHMER (F.). — Ueber den Nährwerth der essbaren Schwämme. *Zeitschr. f. Nahr.mitt.-Unters.* I, 1887, p. 4.
  295. SULLIVAN. — Some organic constituents of the culture solution and the mycelium of molds from soil. *Biochem. Bull.*, III, 1913, p. 86.
  296. SUMI (M.). — Ueber die chemischen Bestandteile der Sporen von *Aspergillus orizae*. *Biochem. Zeitschr.*, CXCIV, 1928, p. 161.
  297. SUMI (M.). — On Ergosterin Isolated from a Japanese Edible Mushroom, *Cortinellus Shiitaki*. *Proc. Imp. Acad. Tokyo* IV, 1928, p. 116.
  298. TAMURÁ (M.). — Fettverlust beim Trocknen des Fleisches. *Biochem. Zeitschr.*, XLI, 1912, p. 78.
  299. TANRET (C.). — Sur un nouveau principe immédiat de l'ergot de seigle, l'ergostérine. *C. R. Ac. Sc.*, CVIII, 1889, p. 98.
  300. TANRET (C.). — Sur l'ergostérine et la fongistérine. *Ann. d. Chim.* (8), XV, 1908, p. 313.
  301. TANRET (G.) et PENAU (H.). — Sur un stérol destroyre de la levure de bière, le zymostérol. *Bull. Soc. Chim. biol.*, XI, 1929, p. 929.
  302. TERROINE (E.-F.). — Contribution à la connaissance de la physiologie des substances grasses et lipoïdiques. *Ann. Sc. nat. Zool.*, (10), IV, 1919, p. 1.
  303. TERROINE (E.-F.). — Formation et utilisation des graisses. *Ann. des Sc. nat. Bot.*, (10), II, 1920, p. I.
  304. TERROINE (E.-F.) et BELIN (P.). — L'élément constant des lipides : ses caractères. *Bull. Soc. Chim. biol.* IX, 1927, p. 12.
  305. TERROINE (E.-F.) et BONNET — L'énergie de croissance. Formation des matières grasses aux dépens des glucides chez les micro-organismes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, IX, 1927, p. 588.
  306. TERROINE (E.-F.) et BONNET (R.). — L'énergie de croissance.

- XIII. Le rendement énergétique dans le développement du *Sterigmatocystis nigra* sur diverses substances ternaires. *Bull. Soc. Chim. biol.*, XII, 1930, p. 10.
307. TERROINE (E.-F.), BONNET (R.) et DUQUÉNOIS (P.). — L'énergie de croissance. XI. Formation des glucides aux dépens des acides gras par les moisissures. *Bull. Soc. Chim. biol.*, IX, 1927, p. 595.
308. TERROINE (E.-F.), BONNET (R.), KOPP (G.) et VÉCHOT (G.). — Sur la signification physiologique des liaisons éthyléniques des acides gras. *Bull. Soc. Chim. biol.*, IX, 1927, p. 605.
309. TERROINE (E.-F.), BONNET (R.), KOPP (G.) et VÉCHOT (J.). — La formation des stérols est-elle liée au métabolisme des matières grasses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, IX, 1927, p. 678.
310. TERROINE (E.-F.), HATTERER (Ch.) et ROEHRICH (P.). — Les acides gras des phosphatides chez les animaux poikilothermes, les végétaux supérieurs et les microorganismes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, XII, 1930, p. 682.
318. TERROINE (E.-F.) et WURMSER (R.). — L'énergie de croissance. I. Le développement de l'*Aspergillus niger*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, IV, 1922, p. 519.
312. THOERNER (W.). — Ueber einen in einer *Agaricus*-Art vorkommenden chionoartigen Körper. *Ber. d. d. chem. Ges.*, XI, 1878, p. 533.
313. THOERNER (W.). — Ueber den in *Agaricus atramentosus* vorkommende chionoartigen Körper. II. Mitteilung. *Ber. d. d. chem. Ges.*, XII, 1879, p. 1630.
314. THOERNER (W.). — Ueber eine neue, in *Agaricus integer* vorkommende organische Säure. *Ber. d. d. chem. Ges.*, XII, 1879, p. 1635.
315. TRIPIER. — Cité d'après LUDWIG (188).
316. TSCHIRCH. — *Die Harze und Harzbehälter*. 2<sup>e</sup> édition, Berlin, Bornträger, 1906.
317. VAN TIEGHEM. — Sur la végétation dans l'huile. *Bull. Soc. bot. France*, XXVII, 1880, p. 353.
318. VAN TIEGHEM. — Recherches sur la vie dans l'huile. *Bull. Soc. bot. France*, XXVIII, 1881, p. 137.
319. VAUQUELIN. — Expériences sur les Champignons. *Ann. de Chim.*, LXXXV, 1813, p. 5.
320. VAUQUELIN — Analyse du Seigle ergoté du bois de Boulogne, près Paris. *Ann. de Chim.*, (2), III, 1816, p. 337.
321. VESELY (V.) et JAKES (M.). — Note sur la nomenclature des lipides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, XII, 1930, p. 128.
322. WALKER (Th. K.) et COPPOCK (Ph. D.). — The mechanism of the degradation of fatty acids by mould fungi I. *Journ. Chem. Soc. London*, 1928, p. 803.
323. WALTER (H.). — Ein Beitrag zur Frage der chemischen Konstitution des Protoplasmas. *Biochem. Zeitschr.*, CXXII, 1921, p. 86.
324. WATANABE (R.). — Ein weiterer Beitrag zur KUMAGAWA-SUTOSCHEN Fettbestimmungs Methode. *Biochem. Zeitschr.*,

- XLI, 1912, p. 71.
325. WEHMER (C.). — Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. *Botan. Ztg.* XLIX, 1891, p. 232, 248, 271, 288, 304, 320, 336, 352, 368, 384, 400, 416, 431, 448 et 464.
  326. WENT (F. A. F. C.). — Ueber den Einfluss der Nahrung auf die Enzymbildung durch *Monilia Sitophila* (Mont.) Sacc. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, XXXVI, 1901, p. 611.
  327. WIELAND (H.) et ASANO (M.). — Zur Kenntnis der Sterine der Hefe. *Ann. der Chem. u. d. Pharm.*, CCCCLXXIII, 1929, p. 300.
  328. WIGGERS (H. A. L.). — Untersuchungen über das Mutterkorn, *Secale cornutum*. *Ann. der Chem. u. d. Pharm.*, I, 1832, p. 129.
  329. WINCKLER (F. L.). — Versuche über das Mutterkorn. *Arch. der Pharm.*, XXIII, 1827, p. 148.
  330. WINDAUS (A.). — Ueber die Entgiftung der Saponine durch Cholesterin. *Ber. d. d. chem. Ges.* XLII, 1909, p. 238.
  331. WINDAUS (A.). — Ueber die quantitative Bestimmung des Cholesterins und der Cholesterinester in einigen normalen, und pathologischen Nieren. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, LXV, 1910, p. 110.
  332. WINDAUS (A.) et GROSSKOPF (W.). — Ueber das Ergosterin der Hefe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, CXXIV, 1923, p. 8.
  333. YABUTA. — Cité d'après CZAPEK (57), III, p. 380.
  334. ZEEH (H.). — Weitere Beiträge zur chemischen Kenntnis einiger Bestandteile aus *Secale cornutum*. *Dissert.* Erlangen, 1894.
  335. ZEGA (A.). — *Agaricus campestris*. *Chem. Ztg.*, XXIV, 1900, p. 285.
  336. ZEGA (A.). — Essbare Pilze. *Chem. Ztg.*, XXVI, 1902, p. 10.
  337. ZEISEL (S.) et FANTO (R.). — Bestimmung des Rohglycerins im Weine mittelst der « Jodidmethode ». *Zeitschr. f. anal. Chem.*, XLII, 1903, p. 549.
  338. ZELLNER (J.). — Zur Chemie des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria* L.) *Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien.*, CXIV, Iib, 1905, p. 253.
  339. ZELLNER (J.). — Ueber das fettspaltende Ferment der höheren Pilze. *Monatsh. f. Chem.*, XXVII, 1906, p. 295.
  340. ZELLNER (J.). — *Chemie der höheren Pilze*. Leipzig, Engelmann, 1907, IV + 257 p. in 8°.
  341. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. I. Mitteilung *Trametes suaveolens* Fr. *Monatsh. f. Chem.*, XXIX, 1908, p. 45.
  342. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. II. Mitteilung : *Polyporus igniarius* Fr. *Monatsh. f. Chem.*, XXIX, 1908, p. 1171.
  343. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. V. Mitteilung Ueber den Maisbrand (*Ustilago maydis* Tulasne). *Monatsh. f. Chem.*, XXXI, 1910, p. 617.
  344. ZELLNER (J.). — Zur Chemie des Fliegenpilzes (*Amanita mus-*

- caria* L.) (IV. Mitteilung). *Monatsh. f. Chem.*, XXXII, 1911, p. 133.
345. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. VII. Mitteilung. *Hypholoma fasciculare* Huds. *Monatsh. f. Chem.*, XXXII, 1911, p. 1057.
346. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. VIII. Mitteilung. Ueber den Weizenbrand (*Tilletia levis* Kühn und *tritici* Winter). *Monatsh. f. Chem.*, XXXII, 1911, p. 1065.
347. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. IX. Mitteilung : Ueber die durch *Exobasidium Vaccinii* Woron. auf *Rhododendron ferrugineum* L. erzeugten Gallen. *Monatsh. f. Chem.*, XXXIV, 1913, p. 311.
348. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. X. Mitteilung : Ueber *Armillaria mellea* Vahl, *Lactarius piperatus* L, *Pholiota squarrosa* Müll und *Polyporus betulinus* Fr. *Monatsh. f. Chem.*, XXXIV, 1913, p. 321.
349. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XI. Mitteilung : Ueber *Lactarius scrobiculatus* Scop, *Hydnum ferrugineum* Fr., *Hydnum imbricatum* L und *Polyporus applanatus* Wallr. *Monatsh. f. Chem.*, XXXVI, 1915, p. 611.
350. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XII. Mitteilung : Ueber *Lenzites sepiaria* Sw, *Panus stypticus* Bull und *Exidia auricula* Judae Fr. *Monatsh. f. Chem.*, XXXVIII, 1917, p. 319.
351. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XIII. Mitteilung : Ueber *Scleroderma vulgare* Fr. und *Polysaccum crassipes* DC. *Monatsh. f. Chem.*, XXXIX, 1918, p. 603.
352. ZELLNER (J.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XIV. Mitteilung : Ueber *Lactarius rufus* Scopol, *Lactarius pallidus* Pers und *Polyporus hispidus* Fr. *Monatsh. f. Chem.*, XLI, 1920, p. 443.
353. ZELLNER (J.) et ZIKMUNDA (E.). — Zur Chemie der höheren Pilze. XXI. Mitteilung : Ueber *Polyporus sulfureus* L. und *Lentinus squamosus*. *Monatsh. f. Chem.*, LVI, 1930, p. 200.
354. ZOPF (W.). — *Die Pilze*. Breslau, Trewendt, 1890.
-

## TABLE DES MATIÈRES.

|                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| I. — Introduction .....                                                                              | 3   |
| La nomenclature des lipides .....                                                                    | 3   |
| Les graisses chez les Champignons .....                                                              | 7   |
| Etudes chimiques .....                                                                               | 7   |
| Etudes cytologiques .....                                                                            | 26  |
| Etudes physiologiques .....                                                                          | 29  |
| Exposé du Mémoire .....                                                                              | 37  |
| II. — Méthodes de culture .....                                                                      | 42  |
| III. — Méthodes de dosage des lipides .....                                                          | 45  |
| A. — Généralités et historique sommaire.....                                                         | 45  |
| B. — Exposé et critique de la méthode adoptée.....                                                   | 49  |
| IV. — Résultats expérimentaux.....                                                                   | 57  |
| A. — L'évolution des lipides en milieu normal.....                                                   | 57  |
| B. — L'évolution des lipides en milieu à tendance à l'acidité.....                                   | 63  |
| C. — L'évolution des lipides en milieu à tendance alcaline.....                                      | 69  |
| D. — L'évolution des lipides en milieu tampon.....                                                   | 75  |
| E. — L'évolution des lipides en milieu déséquilibré par défaut de potassium .....                    | 81  |
| F. — L'évolution des lipides en milieu normal contenant de l'hexanhexol comme source de carbone..... | 89  |
| G. — La nutrition du <i>Sterigmatocystis</i> aux dépens des graisses .....                           | 96  |
| H. — Recherches sur la plastine.....                                                                 | 98  |
| 1. — Solubilité .....                                                                                | 98  |
| 2. — Préparation et purification .....                                                               | 99  |
| 3. — Propriétés organoleptiques .....                                                                | 100 |
| 4. — Propriétés chimiques.....                                                                       | 100 |
| 5. — Propriétés physiques autres que la solubilité.....                                              | 101 |
| 6. — Variations .....                                                                                | 101 |
| 7. — Conclusions.....                                                                                | 101 |
| V. — Conclusions générales.....                                                                      | 103 |
| Index bibliographique.....                                                                           | 105 |





## DEUXIÈME THÈSE

---

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ :

Le Squelette lipidique.

Résumé du Lutétien du Bassin de Paris.

---

*Vu et approuvé :*

Paris, le 9-6 1932

Le Doyen de la Faculté des Sciences,  
C. MAURAIN.

*Vu et Permis d'imprimer :*

Le Recteur de l'Académie de Paris,  
S. CHARLÉTY





